illumina®

Guía de referencia del instrumento MiSeq FGx™

PARA USO EXCLUSIVO EN INVESTIGACIÓN, PRUEBAS FORENSES O DE PATERNIDAD

PROPIEDAD DE ILLUMINA
N.º componente 15050524 Rev. C ESP
Febrero de 2015

N.º de catálogo SY-411-9001DOC

Este documento y su contenido son propiedad de Illumina, Inc. y sus afiliados ("Illumina") y están previstos solamente para el uso contractual de sus clientes en conexión con el uso de los productos descritos en él y no para ningún otro fin. Este documento y su contenido no se utilizarán ni distribuirán con ningún otro fin ni tampoco se comunicarán, divulgarán ni reproducirán en ninguna otra forma sin el consentimiento previo por escrito de Illumina. Illumina no transfiere mediante este documento ninguna licencia bajo sus derechos de patente, marca comercial, copyright ni derechos de autor ni similares derechos de terceros.

Para garantizar el uso correcto y seguro de los productos aquí descritos, el personal cualificado y adecuadamente capacitado debe seguir sus instrucciones de manera rigurosa y expresa. Se debe leer y entender completamente todo el contenido de este documento antes de usar estos productos.

SI NO SE LEEN COMPLETAMENTE NI SE SIGUEN EXPRESAMENTE TODAS LAS INSTRUCCIONES AQUÍ CONTENIDAS, PODRÍAN PRODUCIRSE DAÑOS EN EL PRODUCTO, LESIONES EN LAS PERSONAS (USUARIOS U OTROS) Y DAÑOS EN OTRA PROPIEDAD.

ILLUMINA NO ASUME RESPONSABILIDAD ALGUNA QUE SURJA DEL USO INCORRECTO DE LOS PRODUCTOS AQUÍ DESCRITOS (INCLUIDAS LAS PIEZAS O EL SOFTWARE) NI DEL USO DE DICHOS PRODUCTOS FUERA DEL ÁMBITO DE LAS LICENCIAS EXPRESAS ESCRITAS O LOS PERMISOS OTORGADOS POR ILLUMINA EN CONEXIÓN CON LA ADQUISICIÓN DE DICHOS PRODUCTOS POR PARTE DE LOS CLIENTES.

PARA USO EXCLUSIVO EN INVESTIGACIÓN, PRUEBAS FORENSES O DE PATERNIDAD

© 2015 Illumina, Inc. Todos los derechos reservados.

Illumina, **24sure**, **BaseSpace**, **BeadArray**, **BlueFish**, **BlueFuse**, **BlueGnome**, **cBot**, **CSPro**, **CytoChip**, **DesignStudio**, **Epicentre**, **GAIIx**, **Genetic Energy**, **Genome Analyzer**, **GenomeStudio**, **GoldenGate**, **HiScan**, **HiSeq**, **HiSeq X**, **Infinium**, **iScan**, **iSelect**, **ForenSeq**, **MiSeq FGx**, **NeoPrep**, **Nextera**, **NextBio**, **NextSeq**, **Powered by Illumina**, **SeqMonitor**, **SureMDA**, **TruGenome**, **TruSeq**, **TruSight**, **Understand Your Genome**, **UYG**, **VeraCode**, **verifi**, **VeriSeq**, el color naranja calabaza y el diseño de las bases de streaming son marcas comerciales de Illumina, Inc. o sus afiliados en EE. UU. u otros países. Todos los demás nombres, logotipos y marcas comerciales pertenecen a sus respectivos propietarios.

Leer antes de usar este producto

Este producto, y su uso y disposición, están sujetos a los siguientes términos y condiciones. Si el comprador no acepta estos términos y condiciones, el comprador no contará con la autorización de Illumina para utilizar este producto, y no deberá utilizar este producto.

1 **Definiciones**. "**PI de aplicaciones específicas**" hace referencia a los derechos de propiedad intelectual que controla o posee Illumina que pertenecen a este producto (y al uso del mismo) solo en relación con aplicaciones específicas o campos específicos. La PI de aplicaciones específicas excluye la propiedad intelectual que controla o posee Illumina que cubre los aspectos o las características de este producto (o el uso del mismo) que son comunes a este producto en todas las posibles aplicaciones y todos los posibles campos de uso (la "**PI común**"). La PI de aplicaciones específicas y la PI común son subconjuntos separados y no superpuestos de todos los derechos de propiedad intelectual que controla o posee Illumina. A modo de ejemplo, pero sin limitarse a este, los derechos de propiedad intelectual de Illumina sobre métodos diagnósticos específicos, métodos forenses específicos o biomarcadores de ácido nucleico, secuencias o combinaciones de biomarcadores o secuencias específicas son ejemplos de una PI de aplicaciones específicas. "**Consumibles**" hacen referencia a los elementos fungibles y los reactivos de marca Illumina que ha concebido Illumina para su uso junto con el hardware, así como para su consumo mediante el uso del hardware. "**Documentación**" comprende el manual del usuario de Illumina correspondiente a este producto, incluido, entre otros, los prospectos y cualquier otro tipo de documentación que se adjunte a este producto, al que el producto haga referencia o que se encuentre en el embalaje vigentes en la fecha de envío de Illumina. La documentación incluye este documento. "**Hardware**" engloba los instrumentos, accesorios o periféricos de marca Illumina. "**Illumina**" hace referencia a Illumina, Inc. o a un afiliado de Illumina, según corresponda. "**Producto**" comprende el producto al que se adjunta este documento (por ejemplo, hardware, consumibles o software). "**Comprador**" es la persona o entidad que adquiere de manera legal y correcta este producto de Illumina o de un distribuidor autorizado de Illumina. "**Software**" hace referencia al software de marca Illumina (por ejemplo, el software que opera el hardware o el software de análisis de datos). Todo el software se concede mediante licencia y no se vende, al tiempo que puede estar sujeto a términos adicionales que figuren en el acuerdo de licencia del usuario final del software. "**Especificaciones**" incluye las especificaciones escritas de Illumina con respecto a este producto vigentes en la fecha de envío del producto por parte de Illumina.

2 **Derechos para uso exclusivo en investigación**. De conformidad con estos términos y condiciones y, a menos que se acuerde lo contrario por escrito con un directivo de Illumina, al comprador solo se le concede un derecho no exclusivo, no transferible, personal y sin posibilidad de sublicencia de acuerdo con la PI común de Illumina, en vigor en la fecha de envío de este producto por parte de Illumina, con el único fin de utilizar este producto en las instalaciones del comprador para los fines de investigación interna de este (que incluye los servicios de investigación prestados a terceros) y solo conforme a la documentación de este producto, **pero queda excluido de manera específica cualquier uso que** (a) requiriera derechos o una licencia por parte de Illumina sobre una PI de aplicaciones específicas, (b) constituya un nuevo uso de un consumible utilizado previamente, (c) constituya el desmontaje, la ingeniería inversa, la compilación inversa o el montaje inverso de este producto, (d) constituya la separación, la extracción o el aislamiento de los componentes de este producto o de otros análisis no autorizados de este producto, (e) conceda acceso a los métodos de funcionamiento de

este producto o determine dichos métodos, (f) constituya el uso de consumibles o reactivos que no sean de Illumina con el hardware de Illumina (no se aplica si las especificaciones o la documentación disponen lo contrario), o bien (g) constituya la transferencia a un tercero, o la sublicencia, del software o cualquier software de terceros. Todo el software, ya se proporcione por separado, se instale o se incorpore en un producto, se otorga en forma de licencia al comprador y no se vende. Salvo que se estipule de manera expresa en esta sección, ningún derecho ni ninguna licencia de los derechos de propiedad intelectual de Illumina se otorgan de manera expresa, implícita o por impedimento legal (doctrina de los actos propios).

El comprador solo será responsable de determinar si el comprador posee todos los derechos de propiedad intelectual necesarios para los usos previstos de este producto por parte del comprador, incluidos entre otros, cualquier derecho de terceros o derechos en relación con la PI de aplicaciones específicas. Illumina no garantiza que los usos previstos específicos del comprador no infrinjan los derechos de propiedad intelectual de un tercero o de una PI de aplicaciones específicas.

3 **Cumplimiento normativo**. Este producto no se ha aprobado, autorizado ni se le ha otorgado licencia alguna por parte de la Food and Drug Administration (FDA) de EE. UU. o de cualquier otra entidad regulatoria, ya sea extranjera o nacional, para ningún uso previsto específico, bien para su uso en investigación, uso comercial, uso diagnóstico o de cualquier otro tipo. Este producto contiene la etiqueta Para uso exclusivo en investigación. El comprador debe asegurarse de que cuenta con todas las aprobaciones regulatorias pertinentes para los usos previstos de este producto por parte del comprador.

4 **Usos no autorizados**. El comprador acepta: (a) utilizar cada consumible solo una vez, y (b) utilizar solo consumibles o reactivos de Illumina con el hardware de Illumina. Las limitaciones en (a) y (b) no se aplican si la documentación o las especificaciones de este producto disponen lo contrario. El comprador acepta no involucrarse en ninguna de las siguientes actividades, ni tampoco autoriza a ningún tercero a involucrarse en ninguna de las mismas: (i) desmontar, llevar a cabo actos de ingeniería inversa, compilación inversa o montaje inverso del producto, (ii) separar, extraer o aislar componentes de este producto, o bien someter a este producto o a sus componentes a cualquier análisis que no se haya autorizado expresamente en la documentación de este producto, (iii) otorgar acceso a los métodos de funcionamiento de este producto o intentar determinarlos, o bien (iv) transferir a un tercero, o conceder una sublicencia, en relación con cualquier software o cualquier software de terceros. Además, el comprador acepta que el contenido y los métodos de funcionamiento de este producto son propiedad de Illumina y que este producto contiene o incluye secretos de mercado de Illumina. Las condiciones y restricciones que figuran en estos términos y condiciones se negocian como condiciones de venta y, por tanto, controlan la venta de este producto, así como su uso por parte del comprador.

5 **Limitación de responsabilidades. EN LA MEDIDA EN QUE LO PERMITA LA LEY, EN NINGÚN CASO SE CONSIDERARÁ RESPONSABLE A ILLUMINA NI A SUS PROVEEDORES EN RELACIÓN CON EL COMPRADOR O CUALQUIER TERCERO DE LOS COSTES DE GESTIÓN DE SUSTITUCIÓN DE PRODUCTOS O SERVICIOS, DE LA PÉRDIDA DE BENEFICIOS, DATOS U OPERACIONES COMERCIALES, NI DE NINGÚN DAÑO INDIRECTO, ESPECIAL, ACCIDENTAL, EJEMPLAR, CONSECUENTE O PUNITIVO DE NINGÚN TIPO DERIVADO DE O RELACIONADO CON, ENTRE OTROS, LA VENTA DE ESTE PRODUCTO, SU USO, EL CUMPLIMIENTO DE ILLUMINA DE LA PRESENTE NI DE CUALQUIERA DE ESTOS TÉRMINOS Y CONDICIONES, YA SE DERIVEN O PROCEDAN DE CUALQUIER PRINCIPIO DE RESPONSABILIDAD (BIEN POR CONTRATO, DELITO [INCLUIDA LA NEGLIGENCIA], RESPONSABILIDAD ESTRICTA O CUALQUIER OTRO TIPO DE RESPONSABILIDAD).**

6 **LA RESPONSABILIDAD TOTAL Y ACUMULATIVA DE ILLUMINA CON RESPECTO AL COMPRADOR O CUALQUIER TERCERO DERIVADA DE, O EN RELACIÓN CON, ESTOS TÉRMINOS Y CONDICIONES, INCLUIDOS, ENTRE OTROS, ESTE PRODUCTO (INCLUIDO EL USO DEL MISMO) Y EL CUMPLIMIENTO DE ILLUMINA CONFORME A LA PRESENTE, YA SEA POR CONTRATO, DELITO (INCLUIDA LA NEGLIGENCIA), RESPONSABILIDAD ESTRICTA O CUALQUIER OTRO TIPO DE RESPONSABILIDAD, NO SUPERARÁ EN NINGÚN CASO LA CANTIDAD PAGADA A ILLUMINA POR ESTE PRODUCTO.**

7 **Limitaciones sobre las garantías concedidas por Illumina. EN LA MEDIDA QUE LO PERMITA LA LEY Y SUJETO A LA GARANTÍA EXPRESA DEL PRODUCTO QUE FIGURA EN ESTOS TÉRMINOS Y CONDICIONES, ILLUMINA NO OTORGA NINGUNA GARANTÍA (Y RENUNCIA DE MANERA EXPRESA A CUALQUIER GARANTÍA), YA SEA EXPRESA, IMPLÍCITA O LEGAL, EN RELACIÓN CON ESTE PRODUCTO, INCLUIDAS ENTRE OTRAS, CUALQUIER GARANTÍA IMPLÍCITA DE COMERCIALIZACIÓN, IDONEIDAD PARA UN PROPÓSITO PARTICULAR, DE NO INFRACCIÓN O DERIVADA DE UN RENDIMIENTO, ACUERDO, USO O TRANSACCIÓN COMERCIAL. SIN LIMITAR LA GENERALIDAD DE LO DISPUESTO ANTERIORMENTE, ILLUMINA NO AFIRMA, REPRESENTA NI GARANTIZA DE NINGUNA MANERA LA UTILIDAD DE ESTE PRODUCTO PARA LOS USOS PREVISTOS DEL COMPRADOR.**

8 **Garantía del producto**. Todas las garantías son personales en relación con el comprador y no se pueden transferir ni asignar a un tercero, incluido un afiliado del comprador. Todas las garantías son específicas de las instalaciones y no se transfieren si el producto se traslada a otra instalación del comprador, a menos que Illumina efectúe dicho traslado.

a **Garantía de los consumibles**. Illumina garantiza que los consumibles, que no sean consumibles personalizados, cumplirán sus especificaciones hasta un período de (i) 3 meses a partir de la fecha de envío por parte de Illumina, y (ii) cualquier fecha de caducidad o el final de su vida útil impresa previamente en dicho consumible por parte de Illumina, pero en ningún caso será superior a un período de 12 meses a partir de la fecha de envío. En relación con los consumibles personalizados (esto es, consumibles fabricados de acuerdo con las especificaciones o los diseños elaborados por el comprador o que el comprador, o alguna entidad en su nombre, proporciona a Illumina), Illumina

solo garantiza que los consumibles personalizados se fabricarán y probarán de acuerdo con los procesos de control de calidad y fabricación estándar de Illumina. Illumina no garantiza que los consumibles personalizados funcionen de manera prevista por el comprador o para los usos previstos del comprador.

b **Garantía del hardware**. Illumina garantiza que el hardware, siempre que no se trate de componentes actualizados, cumplirá sus especificaciones durante un período de 12 meses tras la fecha de envío por parte de Illumina, a menos que el hardware incluya la instalación ofrecida por Illumina, en cuyo caso el período de garantía comienza en la fecha de instalación o 30 días después de la fecha de envío, lo que ocurra primero ("Garantía básica del hardware"). El término "componentes actualizados" hace referencia a los componentes, las modificaciones o las mejoras de Illumina en el hardware que el comprador haya adquirido previamente. Illumina garantiza que los componentes actualizados cumplirán sus especificaciones durante un período de 90 días a partir de la fecha de instalación de dichos componentes actualizados. Los componentes actualizados no amplían el período de garantía del hardware a menos que la actualización la haya llevado a cabo Illumina en las instalaciones de Illumina, en cuyo caso el hardware actualizado enviado al comprador incorporará una garantía básica del hardware.

c **Exclusiones de la cobertura de la garantía**. Las anteriores garantías no se aplican en la medida en que un incumplimiento se deba a (i) un abuso, uso indebido, abandono, negligencia, accidente, almacenamiento inadecuado o un uso contrario a las disposiciones de la documentación o las especificaciones, (ii) una manipulación, instalación, mantenimiento o reparación indebidas (que no sean realizadas por el personal de Illumina), (iii) alteraciones no autorizadas, (iv) sucesos de fuerza mayor, o bien (v) su uso con un producto de terceros no suministrado por Illumina (a menos que la documentación o las especificaciones del producto dispongan de manera expresa que dicho producto de tercero es para su uso con el producto).

d **Procedimiento para la cobertura de la garantía**. Con el objeto de ser apto para cualquier servicio de reparación o sustitución conforme a esta garantía, el comprador debe (i) ponerse en contacto con la mayor brevedad posible con el departamento de asistencia de Illumina para informarle del incumplimiento, (ii) cooperar con Illumina en la confirmación o el diagnóstico del incumplimiento y (iii) devolver este producto, con pago previo de los costes de transporte a Illumina de acuerdo con las instrucciones de Illumina o, si se acuerda entre Illumina y el comprador, conceder acceso a este producto al personal de reparación autorizado de Illumina con el objeto de confirmar el incumplimiento y realizar las reparaciones pertinentes.

e **Único recurso legal conforme a la garantía**. Según su criterio, Illumina reparará o sustituirá el producto no conforme a las especificaciones que se confirme que está cubierto por esta garantía. Los consumibles reparados o sustituidos ofrecen una garantía de 30 días. El hardware se puede reparar o sustituir por un hardware o componentes funcionalmente equivalentes, reacondicionados o nuevos (solo si un componente del hardware no cumple las especificaciones). Si el hardware se sustituye en su totalidad, el período de garantía correspondiente a la sustitución es de 90 días a partir de la fecha de envío o el período restante de la garantía del hardware original, lo que sea más breve. Si solo se repara o sustituye un componente, el período de garantía de dicho componente será de 90 días a partir de la fecha de envío o el período restante de la garantía del hardware original, lo que finalice antes. Las anteriores disposiciones establecen la única solución del comprador y las únicas obligaciones de Illumina conforme a la garantía que se otorga por la presente.

f **Productos de terceros y garantía**. Illumina no tiene ninguna obligación de garantía en relación con ningún producto procedente de un tercero y que se suministre al comprador de acuerdo con los presentes términos y condiciones. Los productos de terceros son aquellos que están etiquetados o se comercializan con el nombre de un tercero. La garantía de los productos de terceros, si la hubiera, la proporciona el fabricante original. Mediante una solicitud por escrito, Illumina intentará transferir dicha garantía al comprador.

9 **Indemnización**.

a **Indemnización por infracción por parte de Illumina**. Conforme a estos términos y condiciones, incluidas entre otras, las exclusiones de las obligaciones de indemnización de Illumina (sección 9[b] más adelante) y las condiciones de obligación de indemnización (sección 9[d] a continuación), Illumina (i) defenderá, indemnizará y eximirá al comprador frente a cualquier reclamación o demanda de terceros en la que se alegue que este producto, al utilizarse con fines de investigación, de acuerdo con estos términos y condiciones y de acuerdo con la documentación y las especificaciones de este producto, infringe los derechos de propiedad intelectual válidos y ejecutables de un tercero, y (ii) pagará todas las liquidaciones derivadas, y todos los costes y juicios finales (incluidos los honorarios razonables de los abogados) que se le imputen al comprador en relación con dicha reclamación de infracción. Si este producto, o alguna de sus partes, pasa a ser, o según la opinión de Illumina puede ser, el objeto de una reclamación por infracción, Illumina tendrá derecho, según su propio criterio, a (A) procurar al comprador el derecho a continuar utilizando este producto, (B) modificar o sustituir este producto con una sustitución no infractora sustancialmente equivalente, o bien (C) solicitar la devolución de este producto y finalizar los derechos, la licencia y cualquier otro permiso otorgado al comprador en relación con este producto, así como a reembolsar al comprador el valor depreciado (tal como se muestra en los registros oficiales del comprador) del producto devuelto en el momento de dicha devolución, siempre que no se otorgue ningún tipo de reembolso para consumibles utilizados o caducados. Esta sección establece la responsabilidad total de Illumina por cualquier infracción de derechos de propiedad intelectual de terceros.

b **Exclusiones de obligaciones de indemnización por parte de Illumina**. Illumina no tiene la obligación de defender, indemnizar ni eximir al comprador frente a ninguna reclamación por infracción de Illumina en la medida en que dicha infracción se deba a los siguientes casos: (i) el uso de este producto en una manera o para un propósito que se encuentre fuera del ámbito de la finalidad de uso para investigación, (ii) el uso de este producto en una manera que no sea conforme a sus especificaciones, su documentación, los derechos concedidos de manera expresa al comprador conforme estos términos y condiciones, o cualquier infracción por parte del comprador de estos

términos y condiciones, (iii) el uso de este producto junto con cualquier otro producto, material o servicio no prestados por Illumina, (iv) el uso de este producto para realizar un ensayo u otro proceso no proporcionado por Illumina, o bien (v) el cumplimiento de las especificaciones o instrucciones por parte de Illumina para este producto que ha proporcionado el comprador, o que se han proporcionado en su nombre (las condiciones de [i] a [v] se denominan "reclamación excluida").

c **Indemnización por parte del comprador**. El comprador defenderá, indemnizará y mantendrá indemnes a Illumina, sus afiliados, sus colaboradores no afiliados y los socios de desarrollo que contribuyeron al desarrollo de este producto, así como a sus directivos, directores, representantes y empleados correspondientes frente a cualquier reclamación, responsabilidad, daño, multa, pena, demanda y pérdida de cualquier tipo, incluidas, a modo enunciativo pero no taxativo, las reclamaciones por daños personales o muerte y la infracción de los derechos de propiedad intelectual de terceros, que se deriven, estén relacionados o procedan de (i) una infracción por parte del comprador de cualquiera de estos términos y condiciones, (ii) el uso del comprador de este producto fuera del ámbito de su uso para investigación, (iii) cualquier uso de este producto que no sea conforme a las especificaciones o la documentación de este documento, o bien (iv) cualquier reclamación excluida.

d **Condiciones para obligaciones de indemnización**. Las obligaciones de indemnización de las partes estarán condicionadas por las siguientes acciones de la parte que solicita la indemnización: (i) notificación inmediata a la otra parte por escrito de dicha reclamación o demanda, (ii) concesión de autorización y control exclusivo a la otra parte sobre la defensa y arreglo de cualquier reclamación o demanda, (iii) no admisión de la infracción de ningún derecho de propiedad intelectual sin el consentimiento previo por escrito de la otra parte, (iv) la no negociación de ningún acuerdo o compromiso en relación con dicha reclamación o demanda sin el consentimiento previo por escrito de la otra parte y (v) la prestación de asistencia razonable a la otra parte en la defensa de la reclamación o demanda, siempre que la parte reembolse a la parte indemnizada los gastos razonables complementarios que se deriven de la prestación de dicha asistencia.

e **Productos de terceros e indemnización**. Illumina no tiene ninguna obligación de indemnización en relación con ningún producto procedente de un tercero y que se suministre al comprador. Los productos de terceros son aquellos que están etiquetados o se comercializan con el nombre de un tercero. Los derechos de indemnización del comprador, si los hubiera, en relación con los productos de terceros serán conforme a la indemnización del propietario de la patente o del fabricante original. Mediante una solicitud por escrito, Illumina intentará transferir dicha indemnización, si la hubiera, al comprador.

Historial de revisiones

N.º de referencia	Revisión	Fecha	Descripción del cambio
15050524_ESP	C	Febrero de 2015	Errores de formato corregidos.
15050524	B	Enero de 2015	Solo disponible en inglés. Modificación del nombre del kit de reactivos de MiSeq ForenSeq Sequencing Kit a MiSeq FGx Reagent Kit.
15050524	A	Octubre de 2014	Solo disponible en inglés. Publicación inicial.

Contenido

Historial de revisiones vii
Contenido ix

Capítulo 1 Primeros pasos 1

Uso previsto 2
Componentes 3
Inicio del sistema MiSeq FGx 6
Consumibles requeridos 7

Capítulo 2 Software de MiSeq FGx 9

Introducción 10
MiSeq FGx Control Software 11
Opciones del software de análisis para experimentos de uso exclusivo en investigación 36

Capítulo 3 Realización de un experimento 39

Introducción 40
Flujo de trabajo de MiSeq FGx 41
Preparación del cartucho de reactivo 43
Inicio de sesión y selección de tipo de experimento 46
Limpieza de la celda de flujo 47
Carga de la celda de flujo 49
Carga de reactivos 51
Inicio del experimento 53
Supervisión del experimento 54

Capítulo 4 Procedimientos de mantenimiento 56

Introducción 57
Realización de un lavado posterior al experimento 58
Realización de un lavado de mantenimiento 61
Realización de un lavado en modo en espera 64
Apagado del instrumento 67

Capítulo 5 Solución de problemas 69

Introducción 70
Resolución de errores de configuración de experimentos 71
Resolución del fallo de lectura de RFID 72
Prevención de reinicios durante un experimento 74
Solución de problemas de errores de velocidad de flujo 75
Realización de una prueba de volumen 76
Medición de los volúmenes de lavado esperados 78

Índice 79

Asistencia técnica 81

Primeros pasos

Capítulo 1

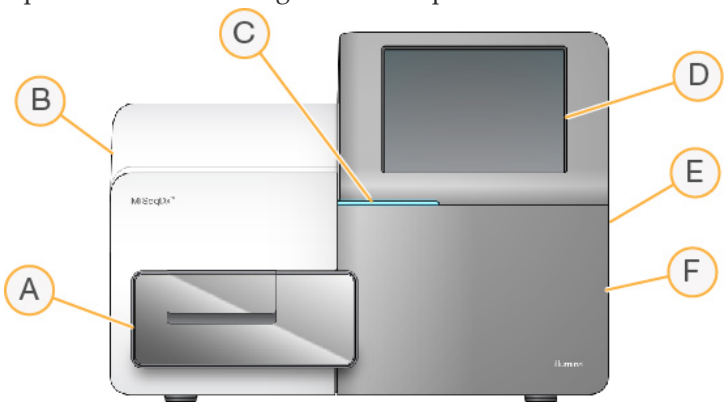
Uso previsto 2
Componentes 3
Inicio del sistema MiSeq FGx 6
Consumibles requeridos 7

Uso previsto

MiSeq FGx es un instrumento de secuenciación que mide las señales de fluorescencia de nucleótidos marcados mediante el uso de celdas de flujo y reactivos específicos del instrumento, hardware de adquisición de imágenes y software de análisis de datos. MiSeq FGx, como parte de MiSeq Forensic Genomics System, está indicado para la secuenciación selectiva de ADN para las investigaciones de antecedentes forenses, base de datos y otras aplicaciones de identificación humana. MiSeq FGx también incluye un modo de uso exclusivo en investigación. Este modo funciona con todos los kits de preparación de bibliotecas de uso exclusivo en investigación de Illumina que sean compatibles con MiSeq.

Componentes

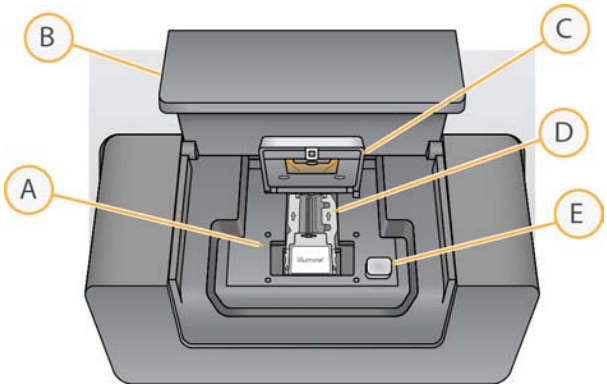
MiSeq FGx consta de los siguientes componentes exteriores:



- **A** **Compartimento de la celda de flujo**: Contiene la platina de la celda de flujo que alberga la celda de flujo durante el experimento. Los motores de la platina de la celda de flujo sacan la platina del módulo óptico cerrado para la carga de celdas de flujo y la devuelven a su sitio cuando empieza el experimento.
- **B** **Módulo óptico cerrado**: Contiene componentes ópticos que permiten la adquisición de imágenes de la celda de flujo.
- **C** **Barra de estado**: Utiliza tres colores para indicar el estado del instrumento. El azul indica que el instrumento está en funcionamiento, el naranja indica que el instrumento requiere atención y el verde indica que el instrumento está listo para empezar el siguiente experimento.
- **D** **Monitor de pantalla táctil**: Permite la configuración integrada en el instrumento y la configuración del experimento utilizando la interfaz del software.
- **E** **Puerto USB externo**: Facilita la transferencia de los archivos y los datos al ordenador del instrumento desde el monitor de pantalla táctil.
- **F** **Compartimento de reactivos**: Mantiene los reactivos a las temperaturas adecuadas, las soluciones de lavado y la botella de residuos. La puerta del compartimento de reactivos se asegura mediante un cierre magnético.

La interfaz de MiSeq FGx guía a los usuarios a través de los pasos de configuración del experimento mediante el monitor de pantalla táctil.

Compartimento de la celda de flujo

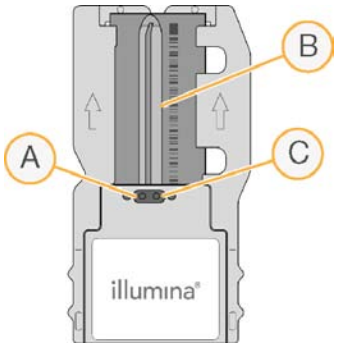


A Platina de la celda de flujo
B Puerta del compartimento de la celda de flujo
C Cierre de la celda de flujo
D Celda de flujo
E Botón de apertura del cierre de la celda de flujo

El compartimento de la celda de flujo contiene la platina, la estación térmica y las conexiones de fluídica de la celda de flujo. La platina de la celda de flujo sostiene la celda de flujo y el cierre de la celda de flujo la fija y la posiciona. Una vez que se cierra la celda de flujo, dos pasadores situados cerca de la bisagra del cierre posicionan automáticamente la celda de flujo.

La estación térmica, situada bajo la platina de la celda de flujo, controla los cambios de temperatura de la celda de flujo y es necesaria para generar y secuenciar grupos.

Celda de flujo



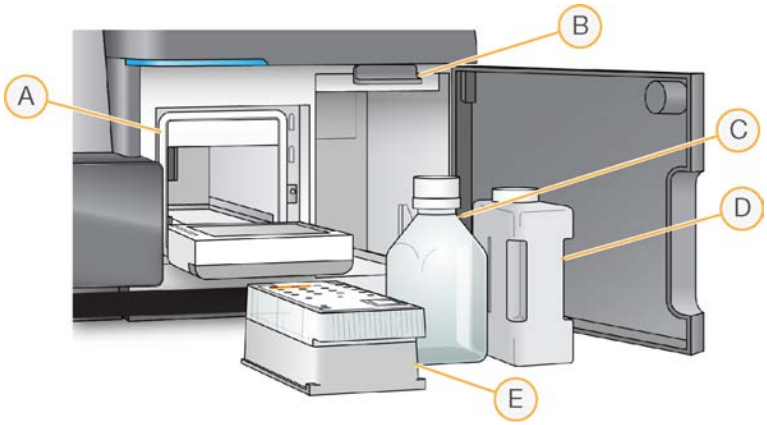
A Puerto de salida
B Área de adquisición de imágenes
C Puerto de entrada

La celda de flujo de MiSeq FGx es un sustrato de vidrio, de un solo uso, en el que se generan grupos y se lleva a cabo la reacción de secuenciación.

Los reactivos entran en la celda de flujo a través del puerto de entrada, pasan por el área de adquisición de imágenes de carril único y salen de la celda de flujo por el puerto de salida. Los residuos que salen de la celda de flujo se depositan en la botella de residuos.

Durante el experimento de secuenciación, las imágenes del carril único se adquieren en pequeñas áreas de adquisición de imágenes, llamadas placas.

Compartimento de reactivos



A Refrigerador de reactivos
B Mango del dispensador (se muestra en posición elevada)
C Botella de Solución SBS (PR2)
D Botella de residuos
E Cartucho de reactivo MiSeq FGx

El compartimento de reactivos contiene el refrigerador de reactivos y las posiciones para la botella de Solución SBS (PR2) y la botella de residuos.

El refrigerador de reactivos sujeta un cartucho de reactivo de un solo uso durante el experimento. Durante el lavado del instrumento, sujeta la bandeja de lavado. El software baja automáticamente los dispensadores al interior del depósito del cartucho de reactivo en el momento adecuado del experimento, en función del proceso que se esté realizando.

A la derecha del refrigerador de reactivos hay dos ranuras que se adaptan a la forma de las botellas de Solución SBS (PR2) y de residuos. El mango del dispensador bloquea las botellas en su sitio y baja el dispensador adecuado al interior de cada botella.

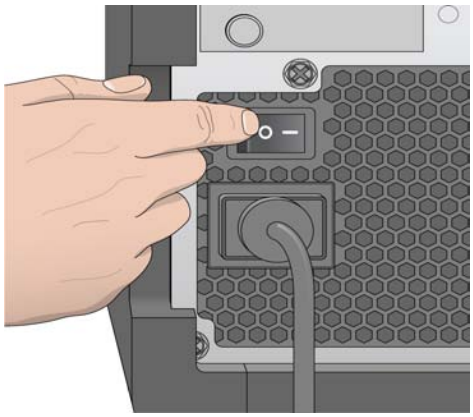
Los reactivos se bombearán por los dispensadores, los conductos de fluídica y, a continuación, la celda de flujo. El residuo de reactivo se enviará a la botella de residuos durante el proceso.

Inicio del sistema MiSeq FGx

NOTA
Illumina recomienda dejar siempre encendido el instrumento. Sin embargo, si es preciso apagar el instrumento, siga el procedimiento de apagado descrito en *Apagado del instrumento* en la página 67. Espere como ***mínimo*** 60 segundos antes de volver a poner el interruptor de alimentación en la posición ON (Encendido).

1 Si MiSeq FGx todavía no está encendido, inspeccione el lateral derecho del instrumento para localizar el interruptor de alimentación del panel trasero. Está situado en la esquina inferior, directamente encima del cable de alimentación.

Figura 1 Ubicación del interruptor de alimentación



2 Ponga el interruptor de alimentación en la posición **ON** (Encendido). El ordenador integrado del instrumento se iniciará.

3 Inicie sesión en el sistema operativo.
Espere hasta que el sistema operativo se haya cargado completamente. MiSeq FGx Control Software se inicia e inicializa el instrumento automáticamente.

4 Una vez finalizado el paso de inicialización, inicie sesión con su nombre de usuario y contraseña de ForenSeq Universal Analysis Software.

Figura 2 Pantalla de inicio de sesión

Illumina MiSeq FGx
Enter your ForenSeq UAS username and password.
Email:
Password:
If you do not have an account, please contact your facility administrator.
Next

5 Haga clic en **Next** (Siguiente). Se abre la pantalla Welcome (Bienvenida). Consulte *Pantalla Welcome (Bienvenida)* en la página 11.

Consumibles requeridos

Consumibles de secuenciación

Los consumibles de secuenciación necesarios para ejecutar MiSeq FGx se proporcionan por separado.

Consumibles proporcionados por el usuario

Antes de iniciar un experimento, asegúrese de que estén disponibles los siguientes consumibles proporcionados por el usuario.

Consumible	Proveedor	Finalidad
Paños humedecidos en alcohol isopropilo al 70 % o etanol al 70 %	VWR, n.º de catálogo 95041-714* Proveedor de laboratorio general	Limpieza del soporte de la celda de flujo
Guantes desechables, sin polvos	Proveedor de laboratorio general	Uso general
Toallita de laboratorio sin pelusa	VWR, n.º de catálogo 21905-026*	Limpieza de la platina de la celda de flujo y del cierre metálico que cubre el depósito de carga de muestras
Papel para lentes, 4 x 6 pulg.	VWR, n.º de catálogo 52846-001*	Limpieza de la celda de flujo
Tubos de microcentrifugado	Proveedor de laboratorio general	Desnaturalización y dilución de bibliotecas de muestras y ADN de control PhiX
Hipoclorito de sodio	Proveedor de laboratorio general	Limpieza del instrumento
Tween 20	Sigma-Aldrich, n.º de catálogo P7949	Limpieza del instrumento
Pinzas de plástico de punta cuadrada (opcionales)	McMaster-Carr, n.º de catálogo 7003A22*	Extracción de la celda de flujo del contenedor de transporte de celdas de flujo
Agua sin nucleasas	Proveedor de laboratorio general	Limpieza del instrumento

* o equivalente

Directrices para el agua sin nucleasas

Utilice siempre agua sin nucleasas para los procedimientos del instrumento. No utilice nunca agua del grifo ni desionizada. Cualquiera de los siguientes son ejemplos aceptables:

- Illumina PW1
- Agua de 18 megaohmios (MΩ)
- Agua Milli-Q
- Agua Super-Q
- Agua de biología molecular

Software de MiSeq FGx

Capítulo 2

Introducción 10
MiSeq FGx Control Software 11
Opciones del software de análisis para experimentos de uso exclusivo en investigación ... 36

Introducción

El software que se describe en este capítulo se utiliza para configurar, ejecutar y analizar datos de MiSeq FGx.

- **MiSeq FGx Control Software**: Controla el funcionamiento del instrumento, incluidos los diferentes ajustes de configuración. Este software se instala y se ejecuta en el instrumento. Consulte *MiSeq FGx Control Software* en la página 11.
- **Análisis en tiempo real (RTA)**: Realiza el procesamiento de las imágenes y las llamadas de bases, y asigna una puntuación de calidad a cada base de cada ciclo. Las imágenes se almacenan temporalmente en la carpeta del experimento para su procesamiento con RTA y, a continuación, se eliminan automáticamente cuando el análisis de RTA finaliza. Este software se instala y se ejecuta en el instrumento.
- **ForenSeq Universal Analysis Software**: Realiza autenticación de usuarios y análisis tales como el demultiplexado, la alineación, la llamada de variantes y la generación de informes. Las funciones específicas compatibles varían en función de la aplicación. Este software se instala fuera del instrumento en un servidor autónomo. El resultado se ve a través de un navegador web. Consulte la *Guía de ForenSeq Universal Analysis Software (n.º de referencia 15053876)* para obtener información sobre el análisis de datos.
- Para experimentos de uso exclusivo en investigación, BaseSpace y MiSeq Reporter están disponibles para realizar análisis adicionales. Consulte *Opciones del software de análisis para experimentos de uso exclusivo en investigación* en la página 36.

MiSeq FGx Control Software

Durante el experimento, MiSeq FGx Control Software activa la platina de la celda de flujo, dispensa reactivos, controla la temperatura de la celda de flujo y captura imágenes de grupos de la celda de flujo. El software de control lleva a cabo el experimento en función de los parámetros especificados en ForenSeq Universal Analysis Software.

Pantalla Welcome (Bienvenida)

La interfaz de MiSeq FGx Control Software se abre en la pantalla Welcome (Bienvenida) cuando se inicia el software.

Figura 3 Pantalla Welcome (Bienvenida)

- **Sequence** (Secuenciar): Esta opción abre una serie de pantallas de configuración del experimento que guían a los usuarios a través de los pasos de la configuración del experimento. Consulte *Pantallas de configuración del experimento* en la página 21.
- **Perform Wash** (Realizar lavado): Proporciona opciones para iniciar los siguientes tipos de lavados del instrumento: Un lavado de mantenimiento, un lavado en modo en espera o un lavado posterior al experimento. Consulte *Pantalla Perform Wash (Realizar lavado)* en la página 13.
- **Manage Files** (Administrar archivos): Permite mover, eliminar y cargar archivos en el ordenador del instrumento. Consulte *Pantalla Manage Files (Administrar archivos)* en la página 14.
- **Run Options** (Opciones de experimento): Proporciona opciones para el lavado posterior al experimento, el cambio de las ubicaciones predeterminadas de las carpetas de datos y la especificación de las preferencias de notificaciones por correo electrónico. Consulte *Pantalla Run Options (Opciones de experimento)* en la página 16.
- **Manage Instrument** (Administrar instrumento): Proporciona opciones para ir a la configuración del sistema, realizar una comprobación del sistema, actualizar manualmente el software y reiniciar o apagar el instrumento. Consulte *Pantalla Manage Instrument (Administrar instrumento)* en la página 19.

Indicadores de actividad

Cada pantalla de la interfaz presenta una serie de iconos en la esquina inferior derecha. Cada icono es un indicador de actividad que muestra qué actividad está realizando el instrumento.

Figura 4 Indicadores de actividad

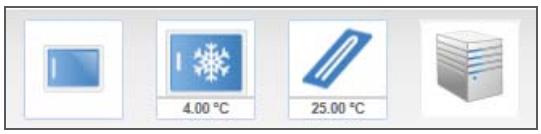
De izquierda a derecha, los indicadores de actividad representan las siguientes actividades:

- Movimiento de la platina Y
- Movimiento de la platina Z
- Activación de la función de los componentes electrónicos
- Uso de la cámara
- Bombeo por el sistema de fluídica

Indicadores del sensor

Existen cuatro indicadores del sensor en la base de cada pantalla de la interfaz y cada uno representa el estado de un componente del instrumento.

Figura 5 Indicadores del sensor



De izquierda a derecha, los indicadores del sensor representan los siguientes componentes:

- Puerta del compartimento de la celda de flujo en las posiciones abierta o cerrada
- Temperatura del refrigerador de reactivos en °C
- Temperatura de la celda de flujo en °C
- Estado de la conexión del servidor

Iconos de estado

En la esquina superior derecha de la pantalla Welcome (Bienvenida) verá un icono de estado que le notificará de los cambios de las condiciones durante la configuración del experimento o durante el experimento.

Icono de estado	Nombre de estado	Descripción
	Estado OK	Sin cambios. El sistema está normal.
	Atención	Información importante. Se recomienda realizar una acción.
	Advertencia	Las advertencias no detienen un experimento. Sin embargo, algunas podrían requerir una acción antes de continuar.
	Error	Los errores suelen detener un experimento y normalmente requieren una acción antes de continuar con el experimento.

Cuando se produce un cambio de estado, el icono cambia a la imagen asociada y parpadea para llamar la atención. Si esto ocurre, seleccione el icono correspondiente para abrir la ventana de estado, que contiene una descripción general de la condición.

- Seleccione cualquier elemento de la lista para ver una descripción detallada del estado, así como las instrucciones para resolver el problema, en su caso.
- Seleccione **Acknowledge** (Aceptar) para aceptar el mensaje y **Close** (Cerrar) para cerrar el cuadro de diálogo.

Los mensajes de la ventana de estado se pueden filtrar seleccionando los iconos situados sobre el margen superior de la ventana. Al seleccionar un icono se muestra o se oculta el estado.

Pantalla Perform Wash (Realizar lavado)

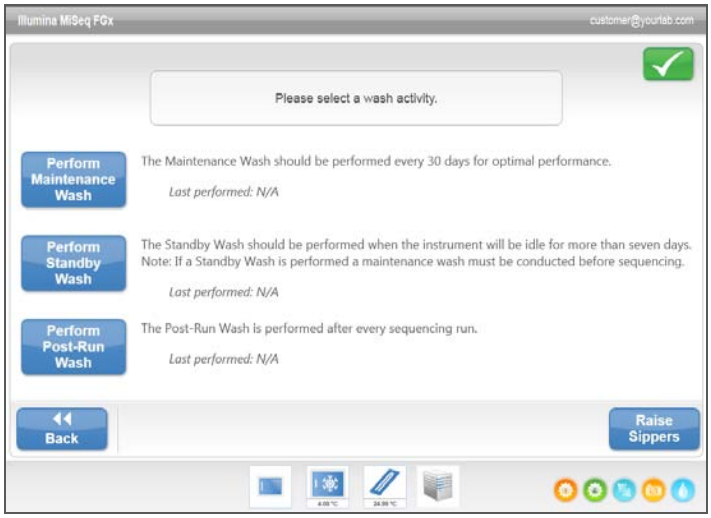
La pantalla Perform Wash (Realizar lavado) permite a los usuarios realizar los siguientes tipos de lavado, así como consultar la fecha en que se realizó el último lavado:

- **Maintenance Wash** (Lavado de mantenimiento): El lavado de mantenimiento consta de tres ciclos de lavado consecutivos que limpian en profundidad el sistema. Realice al menos un lavado de mantenimiento cada 30 días. Consulte *Procedimiento* en la página 61.
- **Standby Wash** (Lavado en modo en espera): El lavado en modo en espera prepara correctamente los conductos de fluídica para permanecer inactivos y consta de dos ciclos de lavado consecutivos. Realice un lavado en modo en espera si quiere que el instrumento permanezca inactivo hasta siete días. Consulte *Realización de un lavado en modo en espera* en la página 64.

  Tras haber puesto el instrumento en modo inactivo, se debe realizar un lavado de mantenimiento antes de iniciar un experimento de secuenciación.
- **Post-Run Wash** (Lavado posterior al experimento): El lavado posterior al experimento es el lavado estándar del instrumento, que se efectúa entre los experimentos de secuenciación y consta de un solo ciclo de lavado. Para realizar un lavado posterior al experimento en otro momento que no sea justo tras un experimento, utilice el comando de la pantalla Perform Wash (Realizar lavado) para iniciar dicho lavado.

MiSeq FGx se puede configurar para realizar un lavado de mantenimiento entre los experimentos, en lugar de un lavado posterior al experimento. Para obtener más información, consulte *Pantalla Run Options (Opciones de experimento)* en la página 16.

Figura 6 Pantalla Perform Wash (Realizar lavado)


Illumina MiSeq FGx
customer@yourlab.com
Please select a wash activity.
Perform Maintenance Wash
The Maintenance Wash should be performed every 30 days for optimal performance.
Last performed: N/A
Perform Standby Wash
The Standby Wash should be performed when the instrument will be idle for more than seven days.
Note: If a Standby Wash is performed a maintenance wash must be conducted before sequencing.
Last performed: N/A
Perform Post-Run Wash
The Post-Run Wash is performed after every sequencing run.
Last performed: N/A
Back
Raise Sippers

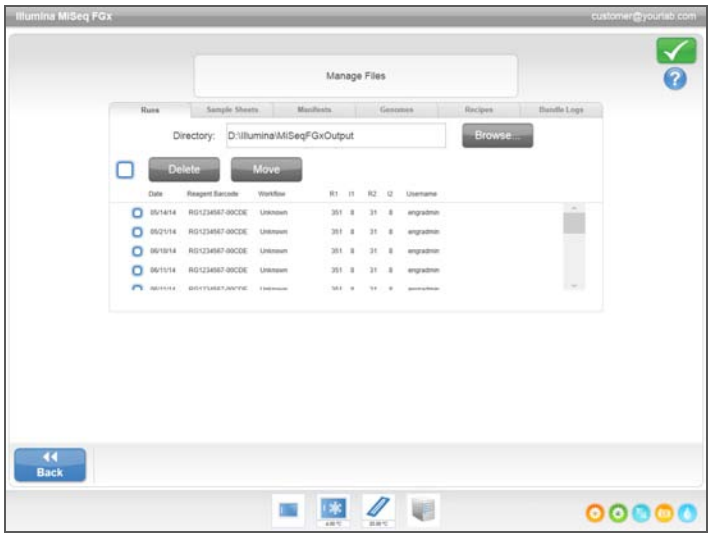
La pantalla Perform Wash (Realizar lavado) también incluye un comando que permite levantar los dispensadores para que se pueda extraer el cartucho de reactivo del instrumento en caso de error o de interrupción imprevista del experimento.

PRECAUCIÓN
Cierre siempre la puerta del refrigerador de reactivos después de cargar la bandeja de lavado y antes de iniciar un lavado. De este modo, se evitarán las posibles lesiones que se podrían producir si se tocan los dispensadores con las manos al bajarlos.

Pantalla Manage Files (Administrar archivos)

Utilice la función Manage Files (Administrar archivos) para mover, cargar o eliminar archivos en el ordenador del instrumento. La pantalla se divide en seis fichas: Runs (Experimentos), Sample Sheets (Hojas de muestras), Manifests (Manifiestos), Genomes (Genomas), Recipes (Fórmulas) y Bundle Logs (Empaquetar registros).

Figura 7 Pantalla Manage Files (Administrar archivos)



Opciones de Manage Files (Administrar archivos)

Desde cualquier ficha de la pantalla Manage Files (Administrar archivos), seleccione **Browse** (Examinar) para navegar hasta cualquier archivo accesible para el instrumento.

Ficha	Funciones	Uso
Runs (Experimentos)	Delete (Eliminar) o Move (Mover)	Para modo de uso exclusivo en investigación o en pruebas forenses.
Sample Sheets (Hojas de muestras)	Delete (Eliminar), Upload (Cargar) o Rename (Renombrar)	Para modo de uso exclusivo en investigación.
Manifests (Manifiestos)	Delete (Eliminar) o Upload (Cargar)	Para modo de uso exclusivo en investigación.
Genomes (Genomas)	Delete (Eliminar) o Upload (Cargar)	Para modo de uso exclusivo en investigación.
Recipes (Fórmulas)	Delete (Eliminar) o Upload (Cargar)	Para modo de uso exclusivo en investigación.
Bundle Logs (Empaquetar registros)	Bundle Logs (Empaquetar registros)	Solo para la solución de problemas del servicio de asistencia técnica de Illumina.

* Los archivos de fórmulas, genomas y manifiestos de ForenSeq están precargados para kits forenses y no deben modificarse.

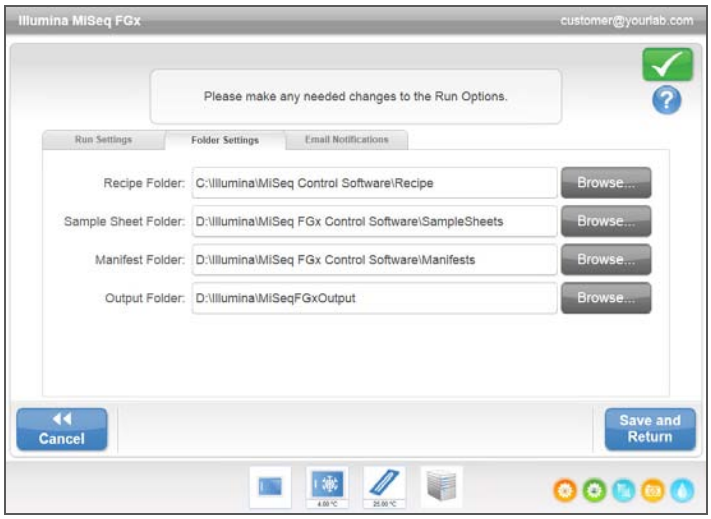
- **Delete** (Eliminar): Seleccione la casilla de verificación situada junto al archivo o la carpeta que se muestra y, a continuación, seleccione **Delete** (Eliminar). La función Delete (Eliminar) está disponible en todas las fichas. Para eliminar archivos de experimentos es necesario disponer del nivel de acceso de usuario administrador.
- **Move** (Mover): Solo está disponible para las carpetas de experimentos. Seleccione la casilla de verificación situada junto al nombre de la carpeta, seleccione **Move** (Mover) y, a continuación, vaya a una ubicación adecuada. **Move** (Mover) *copia* la carpeta del experimento en la nueva ubicación y, a continuación, *elimina* la carpeta de su ubicación anterior.
- **Select All Files** (Seleccionar todos los archivos): Seleccione la casilla de verificación situada a la izquierda del botón Delete (Eliminar) y, a continuación, escoja una acción: Delete (Eliminar) o Move (Mover). La acción se aplicará a todos los archivos o carpetas.
- **Upload Files** (Cargar archivos): Si MiSeq FGx no está conectado a una red, utilice esta función para cargar archivos de hojas de muestras o archivos de manifiesto en el ordenador del instrumento desde una unidad USB. Seleccione **Upload** (Cargar) y vaya hasta la ubicación de la unidad USB donde esté alojada la hoja de muestras. El archivo se cargará en la carpeta indicada en el campo Directory (Directorio).
- **Rename** (Renombrar): Seleccione la casilla de verificación junto al archivo de hoja de muestras y, a continuación, seleccione **Rename** (Renombrar). Utilice el teclado en pantalla para cambiar el nombre de la hoja de muestras.
- **Bundle Logs** (Empaquetar registros): Combina y empaqueta en un archivo zip los grupos de archivos que utilizará el servicio de asistencia técnica de Illumina para solucionar problemas.

.

Pantalla Run Options (Opciones de experimento)

La pantalla Run Options (Opciones de experimento) tiene tres fichas para especificar la configuración predeterminada de un experimento: Run Settings (Configuración de experimento), Folder Settings (Configuración de carpeta) y Email Notifications (Notificaciones por correo electrónico).

Figura 8 Ficha Run Settings (Configuración de experimento) en la pantalla Run Options (Opciones de experimento)



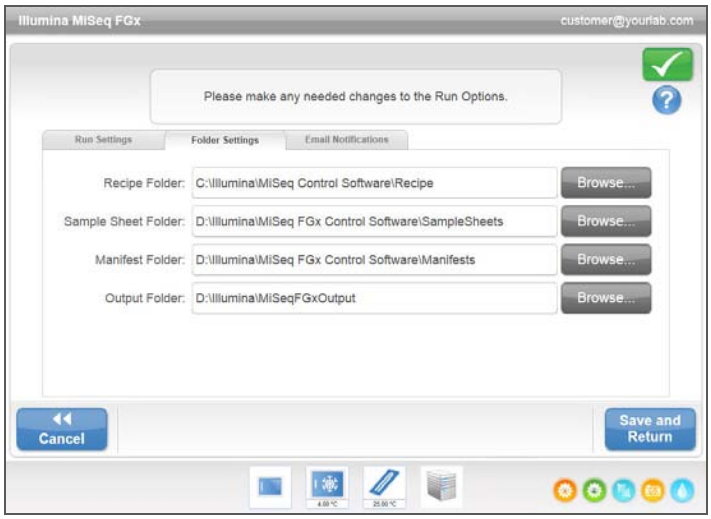
Ficha Run Settings (Configuración de experimento)

- **Post-Run Wash Option** (Opción de lavado posterior al experimento): Se debe realizar un lavado del instrumento después de cada experimento. El software no continuará con los pasos de configuración para el siguiente experimento si no se ha realizado un lavado. Este ajuste de configuración determina qué tipo de lavado se realizará de forma predeterminada después de configurar aquí un experimento. Un lavado posterior al experimento tarda unos 30 minutos y un lavado de mantenimiento tarda aproximadamente 1 hora.

Ficha Folder Settings (Configuración de carpeta)

MiSeq FGx requiere disponer de acceso a varios tipos de archivos almacenados en carpetas situadas en una red local o en el ordenador del instrumento. Las opciones de la ficha Folder Settings (Configuración de carpeta) le indican a MiSeq FGx dónde se encuentran situadas esas carpetas.

Figura 9 Ficha Folder Settings (Configuración de carpeta)



- **Recipes** (Fórmulas): Las fórmulas personalizadas no son compatibles con los kits de ForenSeq.
- **Sample Sheets** (Hojas de muestras): Define la ubicación predeterminada de la información de muestras en ForenSeq Universal Analysis Software. La información de muestras se crea antes de la preparación de las bibliotecas y contiene los parámetros del experimento.
- **Manifests** (Manifiestos): Los kits de ForenSeq utilizan archivos de manifiesto que están precargados.
- **MiSeqFGxOutput**: Define la ubicación predeterminada de los archivos de resultados del análisis. Illumina recomienda cambiar la ubicación predeterminada de la carpeta de resultados a una ubicación de red para compartirla y almacenarla a largo plazo.

Ficha Email Notifications (Notificaciones por correo electrónico)

MiSeq FGx se puede configurar para que envíe una notificación por correo electrónico cuando haya finalizado el análisis de RTA, cuando haya finalizado el análisis de ForenSeq Universal Analysis Software o si se produce un error grave de software de MiSeq FGx. La notificación por correo electrónico solo está disponible si el instrumento está conectado a una red con acceso a Internet.

Figura 10 Ficha Email Notifications (Notificaciones por correo electrónico)

- **Local SMTP email server address** (Dirección de servidor de correo electrónico SMTP local): Utilice el teclado en pantalla para introducir la dirección del servidor de correo electrónico de SMTP local. En caso necesario, póngase en contacto con el administrador de las instalaciones para obtener esta información.
- **Sender email address** (Dirección de correo electrónico del remitente): Utilice el teclado en pantalla para introducir la dirección del correo electrónico del remitente. Esta dirección puede ser la dirección de correo electrónico de un usuario administrador o una dirección diferente especificada para el envío de notificaciones por correo electrónico. La dirección de correo electrónico del remitente debe tener el mismo nombre de dominio que la dirección del servidor de correo electrónico.
- **Recipient addresses** (Direcciones de destinatarios): Utilice el teclado en pantalla para introducir las direcciones de correo electrónico de todos los destinatarios de las notificaciones. Separe cada dirección de correo electrónico con una coma. Seleccione **Test** (Probar) para enviar un mensaje de correo electrónico de prueba a los destinatarios de las notificaciones.
- **Notify via email when** (Notificar por correo electrónico cuando): Seleccione la casilla de verificación de cada uno de los eventos del experimento que desee que active una notificación.

Pantalla Manage Instrument (Administrar instrumento)

La pantalla Manage Instrument (Administrar instrumento) contiene los controles para la configuración del sistema, la solución de problemas, la actualización manual del software y el reinicio o apagado del software del instrumento.

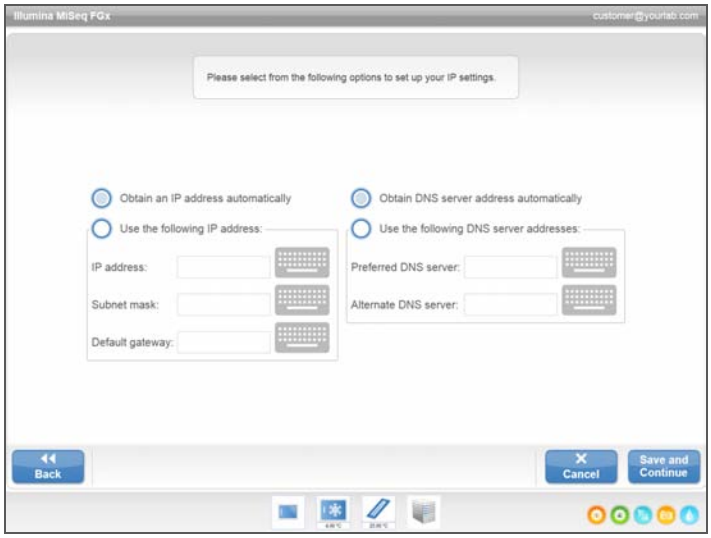
Figura 11 Pantalla Manage Instrument (Administrar instrumento)

- **System Settings** (Configuración del sistema): Permite cambiar la configuración de IP, el nombre de la máquina o el dominio. Consulte *Pantalla System Settings (Configuración del sistema)* en la página 20.
- **System Check** (Comprobación del sistema): Permite solucionar problemas con el fin de comprobar el estado operativo de los componentes del instrumento. Consulte *Pantalla System Check (Comprobación del sistema)* en la página 20.
- **Manual Update** (Actualización manual): Permite actualizar manualmente el software del ordenador del instrumento. Consulte *Pantalla Manual Update (Actualización manual)* en la página 21.
- **Reboot** (Reiniciar): Utilice el comando Reboot (Reiniciar) para reiniciar el software del sistema. No hay ningún requisito para reiniciar el software como parte del mantenimiento regular.
- **Shut Down** (Apagar): Utilice el comando Shut Down (Apagar) para apagar el software de control y Windows en el ordenador del instrumento. Consulte *Apagado del instrumento* en la página 67.
- **Minimize to Windows** (Minimizar a Windows): Proporciona un acceso rápido al sistema operativo del instrumento y a cualquier carpeta que se encuentre en el ordenador del instrumento cuando se ejecute MiSeq FGx en modo de pantalla completa en lugar de en modo Windows.
  Para utilizar esta función, se requiere nivel de acceso de usuario administrador o de superusuario.

Pantalla System Settings (Configuración del sistema)

La configuración del sistema suele definirse cuando el instrumento se instala y se inicia por primera vez. Si necesita modificar algún parámetro de la configuración debido a un cambio de red o de centro, utilice la función System Settings (Configuración del sistema).

Figura 12 System Settings (Configuración del sistema)



Póngase en contacto con el administrador de la instalación para informarse acerca de qué configuración de red debe especificar.

Pantalla System Check (Comprobación del sistema)

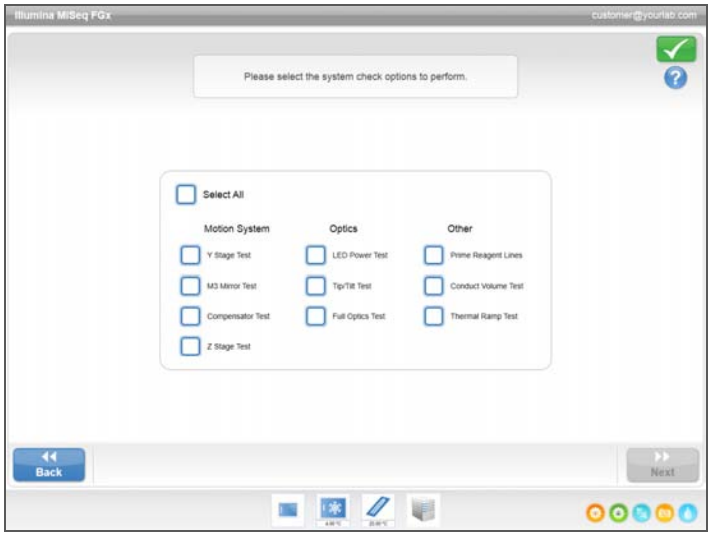
System Check (Comprobación del sistema) es una pantalla que normalmente se utiliza para conectar con un representante del servicio de asistencia técnica de Illumina durante una sesión de Live Help. No es necesario utilizar esta función durante el funcionamiento normal ni para el mantenimiento del instrumento.

Algunas comprobaciones del sistema pueden realizarse antes de ponerse en contacto con el servicio de asistencia técnica de Illumina, como la prueba de volumen. Una prueba de volumen comprueba el estado del sistema de fluídica calculando el volumen de flujo a medida que las burbujas pasan por los sensores. Para obtener más información, consulte *Realización de una prueba de volumen* en la página 76.

Una vez finalizada la comprobación del sistema, los resultados de la prueba aparecerán en la pantalla:

- Seleccione **Show Details** (Mostrar detalles) para ver un resumen de los resultados en la interfaz del software.
- Seleccione **Export Results** (Exportar resultados) para exportar los resultados en formato *.csv en una unidad USB.

Figura 13 Opciones de System Check (Comprobación del sistema)



Pantalla Manual Update (Actualización manual)

La función Manual Update (Actualización manual) se utiliza para actualizar el software de control del instrumento y el software de análisis. Esta función no está disponible para MiSeq FGx. Todas las actualizaciones de software las realiza el personal de Illumina para garantizar una configuración adecuada del sistema.

Pantalla Review (Revisión)

La pantalla Review (Revisión) confirma que MiSeq FGx Control Software ha recibido la información del experimento de ForenSeq Universal Analysis Software.

Figura 14 Pantalla Review (Revisión)

Pantallas de configuración del experimento

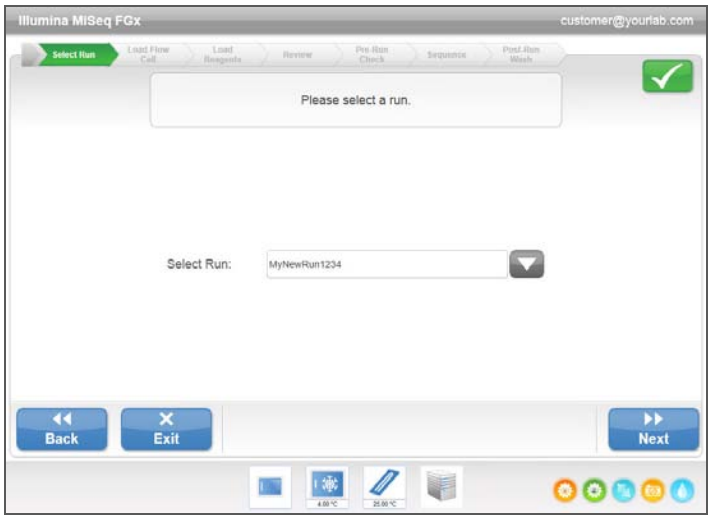
Tras seleccionar **Sequence** (Secuenciar) en la pantalla Welcome (Bienvenida), seleccione un tipo de experimento. Al seleccionar Forensic Genomics (Genómica forense), se abrirá una serie de pantallas de configuración del experimento en el siguiente orden: Select Run (Seleccionar experimento), Load Flow Cell (Cargar celda de flujo), Load Reagents (Cargar

reactivos), Review (Revisar) y Pre-Run Check (Comprobación previa al experimento). Al seleccionar Research Use Only Run (Experimento de uso exclusivo en investigación), se abrirá una serie diferente de pantallas de configuración del experimento. Consulte *Pantallas de configuración para un experimento de uso exclusivo en investigación* en la página 25.

Pantalla Select A Run (Seleccionar un experimento)

Seleccione un experimento para la secuenciación en el menú desplegable. Los experimentos se configuran en ForenSeq Universal Analysis Software.

Figura 15 Pantalla Select a Run (Seleccionar un experimento)



Pantalla Load Flow Cell (Cargar celda de flujo)

La pantalla Load Flow Cell (Cargar celda de flujo) aparece en el momento de cargar la celda de flujo. Una vez cargada la celda de flujo, cierre el cierre de la celda de flujo y la puerta del compartimento de la celda de flujo. El cierre y la puerta del compartimento deben estar cerrados antes de iniciar el experimento.

Figura 16 Pantalla Load Flow Cell (Cargar celda de flujo)

Cuando la celda de flujo está cargada, el software lee y registra la RFID. Aparecerá una confirmación de que la RFID se ha leído correctamente en la esquina inferior derecha de la pantalla.

Si no es posible leer la RFID, se puede introducir manualmente la información de identificación. Sin embargo, el software solo permite el fallo de uno de los tres componentes con etiqueta de RFID (celda de flujo, cartucho de reactivo o Solución SBS (PR2)) por cada

experimento. Para obtener más información, consulte *Resolución del fallo de lectura de RFID* en la página 72.

Seleccione el icono de ayuda de la esquina superior derecha de la pantalla. El archivo de ayuda contiene un vídeo que ilustra los pasos de carga de la celda de flujo.

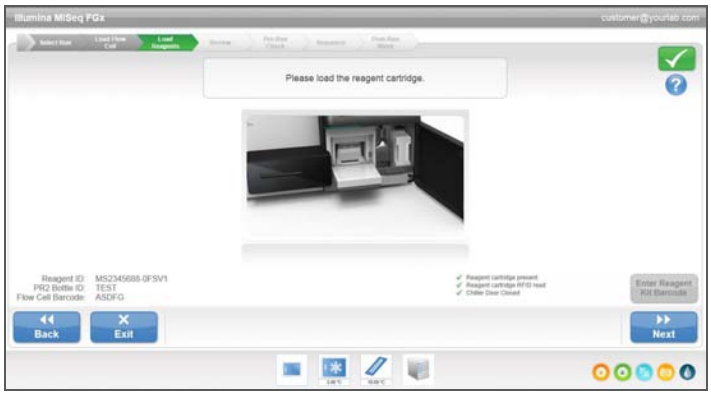
Pantalla Load Reagents (Cargar reactivos)

La pantalla Load Reagents (Cargar reactivos) consiste en dos pasos: En primer lugar, cargue la botella de Solución SBS (PR2) y la botella de residuos vacía y, a continuación, cargue el cartucho de reactivo. Tras cargar la botella de Solución SBS (PR2) y el cartucho de reactivo, el software lee y registra la RFID. Aparecerá una confirmación de que la RFID se ha leído correctamente en la esquina inferior derecha de la pantalla.

NOTA
Utilice los componentes del kit (de secuenciación) de reactivos adecuados para el tipo de experimento que realiza. Los experimentos de genómica forense solo funcionan con kits de secuenciación de ForenSeq y los experimentos de uso exclusivo en investigación solo funcionan con kits de reactivos de uso exclusivo en investigación.

Figura 17 Carga de la botella de Solución SBS (PR2) y la botella de residuos

Figura 18 Carga del cartucho de reactivo



Si no es posible leer la RFID, se puede introducir manualmente la información de identificación. Sin embargo, el software solo permite el fallo de uno de los tres componentes con etiqueta de RFID (celda de flujo, cartucho de reactivo o Solución SBS (PR2)) por cada experimento forense. Para obtener más información, consulte *Resolución del fallo de lectura de RFID* en la página 72.

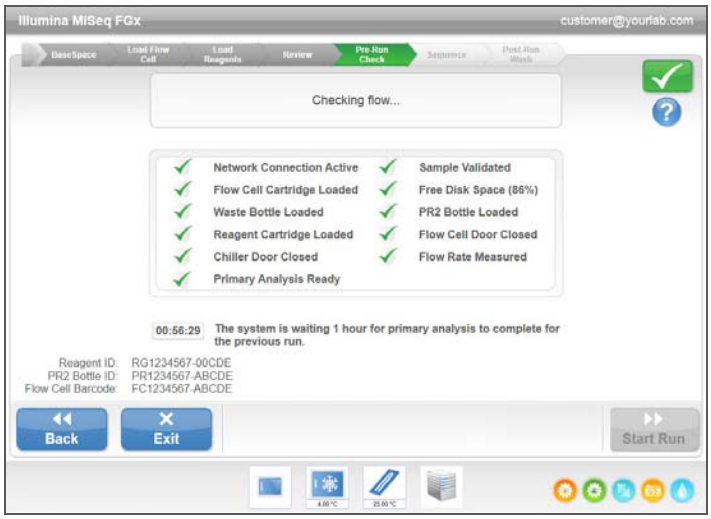
Seleccione el icono de ayuda de la esquina superior derecha de la pantalla. El archivo de ayuda contiene un vídeo que indica los pasos para la carga del cartucho de reactivo y para la carga de la botella de Solución SBS (PR2).

Pantalla Pre-Run Check (Comprobación previa al experimento)

El software realiza automáticamente una comprobación previa al experimento de las condiciones y los componentes necesarios del experimento antes de comenzar. Si se produce algún error durante esta comprobación, aparecerá un mensaje en la pantalla en el que se describirá el error y qué medida hay que adoptar para corregirlo.

Para obtener más información, consulte *Resolución de errores de configuración de experimentos* en la página 71.

Figura 19 Pantalla Pre-Run Check (Comprobación previa al experimento)



Cuando la comprobación previa al experimento se realice correctamente, el botón **Start Run** (Iniciar experimento) se activará.

Pantalla Sequencing (Secuenciación)

La pantalla Sequencing (Secuenciación) se abre cuando empieza el experimento. Esta pantalla proporciona una representación visual del experimento en curso, incluidas las intensidades y las puntuaciones de calidad (puntuaciones Q).

- **Run Progress** (Progreso del experimento): Muestra el progreso del experimento en una barra de estado y recoge el número de ciclos completados.
- **Intensity** (Intensidad): Muestra el valor de las intensidades de grupos del percentil 90 para cada placa.
  El gráfico del área Intensity (Intensidad) representa el número de placas y el número de superficies que se digitalizan:
  - Se adquieren imágenes solo de la superficie superior de la celda de flujo. Aparece un gráfico con una sola columna.
- **Flow Cell** (Celda de flujo): Muestra la temperatura actual de la celda de flujo mediante colores. El azul indica temperaturas más bajas, mientras que el naranja y el rojo indican temperaturas más elevadas. Durante la adquisición de imágenes, las placas de las que se capturan imágenes aparecen en gris oscuro. Durante la química, las líneas onduladas indican que los reactivos se están bombeando a través de la celda de flujo.
- **Cluster Density (K/mm²)** (Densidad de grupos [K/mm²]): Muestra el número de grupos por milímetro cuadrado para el experimento. Lo idóneo sería esperar un rango de densidad de grupos de 400-1650 K/mm².

- **Clusters Passing Filter (%)** (Grupos que superan el filtro [%]): Muestra el porcentaje de grupos que superan el filtro basado en el filtro de castidad de Illumina, que mide la calidad. Este dato aparece solo tras el ciclo 25.

  NOTA
  La castidad de una llamada de bases es la proporción de la intensidad de la señal más alta dividida por la suma de las dos señales más altas. Si existe más de una llamada de bases con un valor de castidad inferior a 0,6 en los primeros 25 ciclos, las lecturas no superan el filtro de calidad.

- **Phasing (%)** (Hebra retrasada [%]): Consulte *Número de ciclos de una lectura* en la página 32 y la sección Run Metrics Tab (Ficha Métricas del experimento) de la *Guía de ForenSeq Universal Analysis Software (n.º de referencia 15053876)*.
- **Prephasing (%)** (Hebra adelantada [%]): Consulte *Número de ciclos de una lectura* en la página 32 y la sección Run Metrics Tab (Ficha Métricas del experimento) de la *Guía de ForenSeq Universal Analysis Software (n.º de referencia 15053876)*.
- **Read 1** (Lectura 1): Para obtener información, consulte la sección Run Metrics Tab (Ficha Métricas del experimento) de la *Guía de ForenSeq Universal Analysis Software (n.º de referencia 15053876)*.
- **Index 1** (Índice 1): Para obtener información, consulte la sección Run Metrics Tab (Ficha Métricas del experimento) de la *Guía de ForenSeq Universal Analysis Software (n.º de referencia 15053876)*.
- **Read 2** (Lectura 2): Para obtener información, consulte la sección Run Metrics Tab (Ficha Métricas del experimento) de la *Guía de ForenSeq Universal Analysis Software (n.º de referencia 15053876)*.
- **Index 2** (Índice 2): Para obtener información, consulte la sección Run Metrics Tab (Ficha Métricas del experimento) de la *Guía de ForenSeq Universal Analysis Software (n.º de referencia 15053876)*.

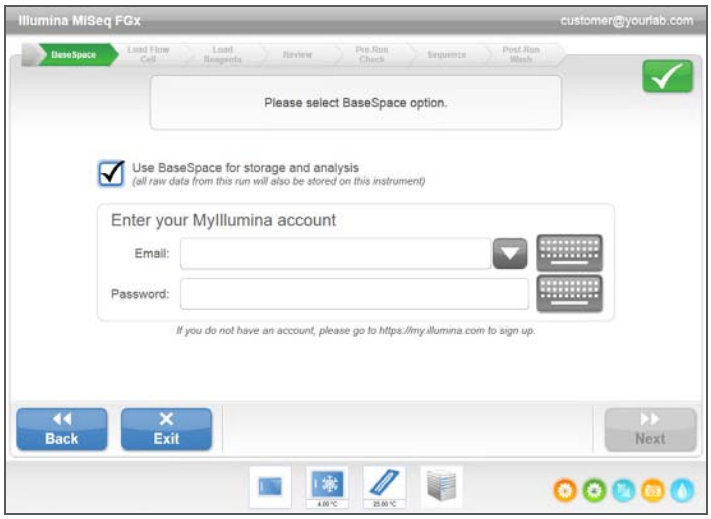
Pantallas de configuración para un experimento de uso exclusivo en investigación

Tras seleccionar **Sequence** (Secuenciar) en la pantalla Welcome (Bienvenida), seleccione un tipo de experimento. Al seleccionar Research Use Only Run (Experimento de uso exclusivo en investigación), se abrirá una serie de pantallas de configuración del experimento en el siguiente orden: BaseSpace Option (Opción BaseSpace), Load Flow Cell (Cargar celda de flujo), Load Reagents (Cargar reactivos), Review (Revisar) y Pre-Run Check (Comprobación previa al experimento). Al seleccionar Forensic Genomics (Genómica forense), se abrirá una serie diferente de pantallas de configuración del experimento. Consulte *Pantallas de configuración del experimento* en la página 21.

Pantalla BaseSpace Option (Opción BaseSpace)

Si realiza el análisis de un experimento de uso exclusivo en investigación en BaseSpace, seleccione **Use BaseSpace for storage and analysis** (Usar BaseSpace para el almacenamiento y el análisis). Al seleccionar la opción BaseSpace, la información del experimento se transfiere a BaseSpace. Introduzca la información de su cuenta MyIllumina.

Figura 20 Pantalla BaseSpace Option (Opción BaseSpace)


Illumina MiSeq FGx
customer@yourlab.com
Please select BaseSpace option.
Use BaseSpace for storage and analysis
(all raw data from this run will also be stored on this instrument)
Enter your MyIllumina account
Email:
Password:
If you do not have an account, please go to https://my.illumina.com to sign up.
Back
Exit
Next

Pantalla Load Flow Cell (Cargar celda de flujo)

La pantalla Load Flow Cell (Cargar celda de flujo) aparece en el momento de cargar la celda de flujo. Una vez cargada la celda de flujo, cierre el cierre de la celda de flujo y la puerta del compartimento de la celda de flujo. El cierre y la puerta del compartimento deben estar cerrados antes de iniciar el experimento.

Figura 21 Pantalla Load Flow Cell (Cargar celda de flujo)

Cuando la celda de flujo está cargada, el software lee y registra la RFID. Aparecerá una confirmación de que la RFID se ha leído correctamente en la esquina inferior derecha de la pantalla.

Si no es posible leer la RFID, se puede introducir manualmente la información de identificación. Sin embargo, el software solo permite el fallo de uno de los tres componentes con etiqueta de RFID (celda de flujo, cartucho de reactivo o Solución SBS (PR2)) por cada experimento. Para obtener más información, consulte *Resolución del fallo de lectura de RFID* en la página 72.

Seleccione el icono de ayuda de la esquina superior derecha de la pantalla. El archivo de ayuda contiene un vídeo que ilustra los pasos de carga de la celda de flujo.

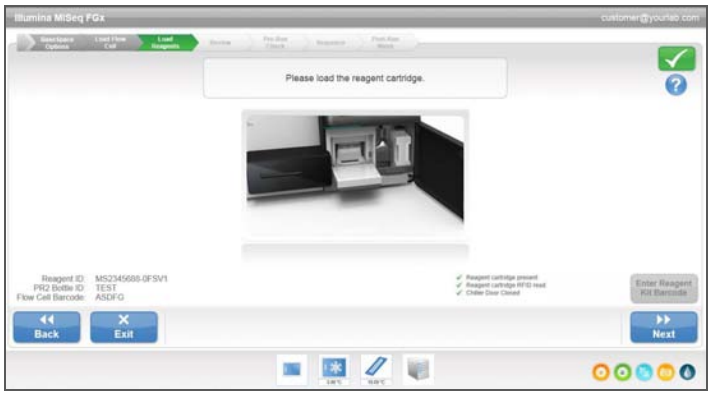
Pantalla Load Reagents (Cargar reactivos)

La pantalla Load Reagents (Cargar reactivos) consiste en dos pasos: En primer lugar, cargue la botella de Solución SBS (PR2) y la botella de residuos vacía y, a continuación, cargue el cartucho de reactivo. Tras cargar la botella de Solución SBS (PR2) y el cartucho de reactivo, el software lee y registra la RFID. Aparecerá una confirmación de que la RFID se ha leído correctamente en la esquina inferior derecha de la pantalla.

NOTA
Utilice los componentes del kit (de secuenciación) de reactivos adecuados para el tipo de experimento que realiza. Los experimentos de genómica forense solo funcionan con kits de secuenciación de ForenSeq y los experimentos de uso exclusivo en investigación solo funcionan con kits de reactivos de uso exclusivo en investigación.

Figura 22 Carga de la botella de Solución SBS (PR2) y la botella de residuos

Figura 23 Carga del cartucho de reactivo



Si no es posible leer la RFID, se puede introducir manualmente la información de identificación. Sin embargo, el software solo permite el fallo de uno de los tres componentes con etiqueta de RFID (celda de flujo, cartucho de reactivo o Solución SBS (PR2)) por cada experimento forense. Para obtener más información, consulte *Resolución del fallo de lectura de RFID* en la página 72.

Seleccione el icono de ayuda de la esquina superior derecha de la pantalla. El archivo de ayuda contiene un vídeo que indica los pasos para la carga del cartucho de reactivo y para la carga de la botella de Solución SBS (PR2).

Cambio de la hoja de muestras

Se requiere una hoja de muestras para un experimento de uso exclusivo en investigación. El software busca de forma predeterminada un archivo de hoja de muestras cuyo nombre coincida con el número del código de barras del cartucho de reactivo cargado en el instrumento. Si no se encuentra ninguna hoja de muestras, se abrirá una ventana para que pueda buscarla.

Seleccione el botón **Change Sample Sheet** (Cambiar la hoja de muestras) en la pantalla Load Reagents (Cargar reactivos) y busque la hoja de muestras adecuada.

Pantalla Review (Revisión)

La pantalla Review (Revisión) confirma que el software ha encontrado la hoja de muestras para el experimento e indica su nombre y los parámetros que aparecen en la hoja de muestras.

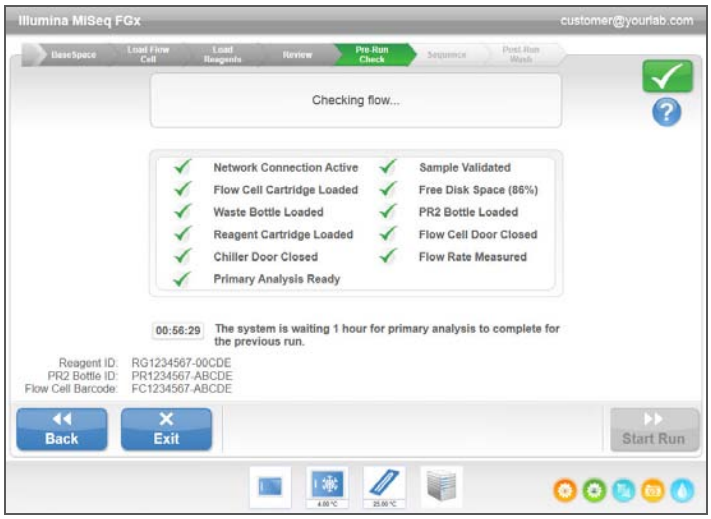
Figura 24 Pantalla Review (Revisión)

Pantalla Pre-Run Check (Comprobación previa al experimento)

El software realiza automáticamente una comprobación previa al experimento de las condiciones y los componentes necesarios del experimento antes de comenzar. Si se produce algún error durante esta comprobación, aparecerá un mensaje en la pantalla en el que se describirá el error y qué medida hay que adoptar para corregirlo.

Para obtener más información, consulte *Resolución de errores de configuración de experimentos* en la página 71.

Figura 25 Pantalla Pre-Run Check (Comprobación previa al experimento)



Cuando la comprobación previa al experimento se realice correctamente, el botón **Start Run** (Iniciar experimento) se activará.

Pantalla Sequencing (Secuenciación) para uso exclusivo en investigación

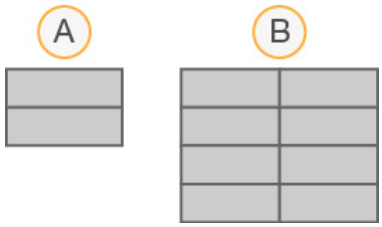
1 Durante el experimento de uso exclusivo en investigación, supervise el progreso, las intensidades y las puntuaciones de calidad en la pantalla Sequencing (Secuenciación). La pantalla Sequencing (Secuenciación) solo puede visualizarse.

Para supervisar el experimento con más detalles, utilice el visor del análisis de secuenciación (SAV) instalado en otro ordenador, independiente del ordenador del instrumento. Necesita una conexión de red. Consulte la *Guía del usuario del visor del análisis de secuenciación (n.º de referencia 15020619)*.

Asimismo, si está conectado a BaseSpace, podrá supervisar el experimento con el SAV en BaseSpace.

- **Run Progress** (Progreso del experimento): Muestra el progreso del experimento en una barra de estado y recoge el número de ciclos completados.
- **Intensity** (Intensidad): Muestra el valor de las intensidades de grupos del percentil 90 para cada placa.

  El gráfico del área Intensity (Intensidad) representa el número de placas y el número de superficies que se digitalizan:
  - Si se adquieren imágenes solo de la superficie superior de la celda de flujo, aparece un gráfico con una sola columna.
  - Si se adquieren imágenes tanto de la superficie superior como de la inferior de la celda de flujo, aparece un gráfico de dos columnas.



A Indica dos placas, solamente en la superficie superior
B Indica cuatro placas, en la superficie superior e inferior

- **Q-Score All Cycles** (Puntuaciones Q de todos los ciclos): Muestra el porcentaje medio de bases superiores a Q30, que se trata de un indicador de la puntuación de calidad (puntuación Q). La puntuación Q es una predicción de la probabilidad de que se produzca una llamada de bases incorrecta. Las puntuaciones Q se calculan tras el ciclo 25.

Puntuación Q	Probabilidad de llamada de bases incorrecta
Q40	1 de cada 10 000
Q30	1 de cada 1000
Q20	1 de cada 100
Q10	1 de cada 10

- **Cluster Density (K/mm²)** (Densidad de grupos [K/mm²]): Muestra el número de grupos por milímetro cuadrado para el experimento.
- **Clusters Passing Filter (%)** (Grupos que superan el filtro [%]): Muestra el porcentaje de grupos que superan el filtro basado en el filtro de castidad de Illumina, que mide la calidad. Este dato aparece solo tras el ciclo 25.

NOTA
La castidad de una llamada de bases es la proporción de la intensidad de la señal más alta dividida por la suma de las dos señales más altas. Si existe más de una llamada de bases con un valor de castidad inferior a 0,6 en los primeros 25 ciclos, las lecturas no superan el filtro de calidad.

- **Estimated Yield (Mb)** (Rendimiento estimado [Mb]): Muestra el número proyectado de bases llamadas del experimento en megabases. Este dato aparece solo tras el ciclo 25.

2 Cuando el experimento haya finalizado, aparecerá el botón Next (Siguiente). Revise los resultados en la pantalla Sequencing (Secuenciación) antes de continuar.

NOTA
La castidad de una llamada de bases es la proporción de la intensidad de la señal más alta dividida por la suma de las dos señales más altas. Si existe más de una llamada de bases con un valor de castidad inferior a 0,6 en los primeros 25 ciclos, las lecturas no superan el filtro de calidad.

3 Seleccione **Next** (Siguiente) para salir de la pantalla Sequencing (Secuenciación) y proceda con un lavado posterior al experimento.

Figura 26 Pantalla Sequencing (Secuenciación) para un experimento de uso exclusivo en investigación

Generación de plantillas

La generación de plantillas es el proceso por el que se definen las posiciones de los grupos de toda la superficie de la celda de flujo de acuerdo con las coordenadas X e Y. El análisis en tiempo real (RTA) utiliza los siete primeros ciclos del experimento de secuenciación para la generación de plantillas de los kits de MiSeq FGx y de uso exclusivo en investigación v3, y los cuatro primeros ciclos de los kits de uso exclusivo en investigación v1 y v2.

Una vez generada la plantilla de las posiciones de los grupos, las imágenes producidas de cada ciclo de imágenes posterior se alinearán con la plantilla. Se extraen las intensidades de grupos individuales de los cuatro canales de color de nucleótidos y se producen llamadas de bases desde las intensidades de grupos normalizadas.

Carpetas del experimento

Cada experimento de MiSeq FGx genera tres carpetas de experimento, cada una con una finalidad concreta:

- **D:\Illumina\MiSeqFGxTemp**: Cuando el experimento comienza, se crea una carpeta temporal en la unidad local del ordenador del instrumento y se utiliza como un área de trabajo para MiSeq FGx Control Software y RTA. No es necesario acceder a la carpeta temporal. El contenido de esta carpeta se elimina tras siete días.
- **D:\Illumina\MiSeqFGxOutput**: RTA copia archivos de la carpeta temporal a la carpeta de resultados. A medida que se generan los archivos de llamadas de bases y de puntuación de calidad de llamada de bases, RTA vuelve a copiar los archivos en la carpeta temporal y llena la carpeta de análisis. Las imágenes de enfoque y en miniatura no se copian en la carpeta de análisis.
  Se puede cambiar la ubicación de la carpeta de resultados en el campo Output Folder (Carpeta de resultados) de la pantalla Run Options (Opciones de experimento). Para obtener más información, consulte *Pantalla Run Options (Opciones de experimento)* en la página 16.
- **D:\Illumina\MiSeqFGxAnalysis**: Cuando haya finalizado el análisis de RTA, ForenSeq Universal Analysis Software accederá a la carpeta de análisis de la unidad local del instrumento para iniciar el análisis posterior. Todos los archivos guardados en la carpeta de análisis se copian en la carpeta de resultados. Para obtener más información, consulte *Guía de ForenSeq Universal Analysis Software (n.º de referencia 15053876)*.

Asignación de nombres a la carpeta raíz

El nombre de la carpeta raíz del experimento identifica la fecha del experimento, el número del instrumento y la celda de flujo utilizada para el experimento. Las carpetas de experimento tienen el mismo nombre de carpeta raíz en todos los experimentos.

De forma predeterminada, el nombre de la carpeta utiliza este formato:

AAMMDD_<número_instrumento>_<número_experimento>_A<código_barras_célula_flujo>

El número del experimento aumenta en incrementos de uno cada vez que se realiza un experimento en un instrumento determinado.

Duración del experimento

La duración del experimento depende del número de ciclos que se lleven a cabo. MiSeq FGx puede realizar un experimento de secuenciación indexada de 8 ciclos para el índice 1 y 8 ciclos para el índice 2 de 351 + 31 ciclos para kits de ForenSeq.

Número de ciclos de una lectura

El número de ciclos realizados en una lectura es un ciclo más que el número de ciclos analizados. El ciclo adicional es necesario para los cálculos de hebra retrasada y hebra adelantada.

Por ejemplo, un experimento de 350 + 30 ciclos de "paired-end" realiza una lectura de 351 ciclos y una lectura de 31 ciclos para un total de 382 ciclos. Al final del experimento, se habrán analizado 380 ciclos.

Para obtener información sobre el número de ciclos que se pueden realizar con un kit, consulte la *Guía de referencia de MiSeq FGx Reagent Kit (n.º de referencia 15055483)*. Si se realiza un experimento de uso exclusivo en investigación, consulte la guía de preparación de reactivos de MiSeq Reagent Kit correspondiente para uso exclusivo en investigación.

Espacio necesario en disco

El ordenador integrado del instrumento ofrece una capacidad de almacenamiento aproximada de 550 GB.

Antes de iniciar un experimento, el software comprueba el espacio disponible en el disco. Si no hay suficiente espacio libre en el disco para el experimento, aparecerá un mensaje del software. Dicho mensaje informará de cuánto espacio en disco es necesario para el experimento y cuánto espacio en disco es preciso liberar para poder continuar el experimento.

Si se le indica que libere espacio en disco, vaya a la pantalla Welcome (Bienvenida) y seleccione **Manage Files** (Administrar archivos). En la pantalla Manage Files (Administrar archivos), seleccione la ficha **Runs** (Experimentos). Mueva o elimine las carpetas de experimentos anteriores como proceda. Para obtener más información, consulte *Pantalla Manage Files (Administrar archivos)* en la página 14. Después de liberar el espacio en disco necesario, seleccione **Restart Check** (Reiniciar comprobación).

Pausa o detención de un experimento

El sistema MiSeq FGx está diseñado para realizar un experimento de principio a fin sin necesidad de que intervenga el usuario. No obstante, se puede poner en pausa o detener un experimento en la pantalla Sequencing (Secuenciación).

Pausa de un experimento

Se puede poner en pausa un experimento durante la secuenciación si es necesario (por ejemplo, para vaciar la botella de residuos o comprobar el volumen restante en la botella de Solución SBS (PR2)) y, después, reiniciarlo para continuar con la secuenciación.

PRECAUCIÓN

No ponga en pausa un experimento durante la generación de grupos o en los primeros ocho ciclos de la secuenciación. No es posible reanudar un experimento puesto en pausa en ese momento. Si utiliza MiSeq FGx en modo de uso exclusivo en investigación, consulte *Métricas de experimento* en la página 54 para obtener información sobre los ciclos de los kits de cartuchos de reactivos.

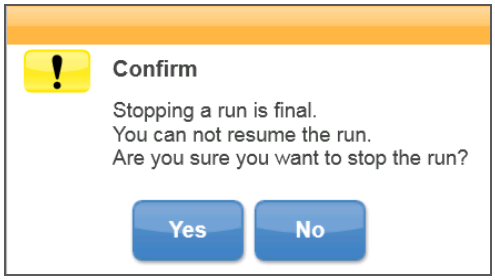
Para poner en pausa un experimento desde la pantalla Sequencing (Secuenciación), seleccione **Pause** (Pausar). El comando actual ha finalizado, tras lo cual se pone en pausa el experimento, la celda de flujo se pone en un estado seguro y el botón cambia a **Resume** (Reanudar). En este momento puede vaciar la botella de residuos, por ejemplo. Seleccione **Resume** (Reanudar) para continuar con el experimento.

Detención de un experimento

En caso necesario, se puede detener un experimento durante la secuenciación (por ejemplo, si el experimento se configuró incorrectamente, si la calidad de los datos es deficiente o si se produce un error en el hardware).

Para detener un experimento en la pantalla Sequencing (Secuenciación), seleccione **Stop** (Detener). Cuando se detiene un experimento, el comando actual no se realiza y la platina de la celda de flujo se mueve hacia delante. El análisis de RTA continúa en el último ciclo finalizado.

Figura 27 Detención de un experimento



La detención de un experimento es definitiva. No es posible reanudar un experimento tras detenerlo. La única opción disponible es realizar un lavado del instrumento.

Si detiene un experimento, no podrá utilizar los reactivos restantes del cartucho de reactivo para un experimento posterior. Un experimento nuevo requiere un cartucho de reactivo nuevo.

Live Help

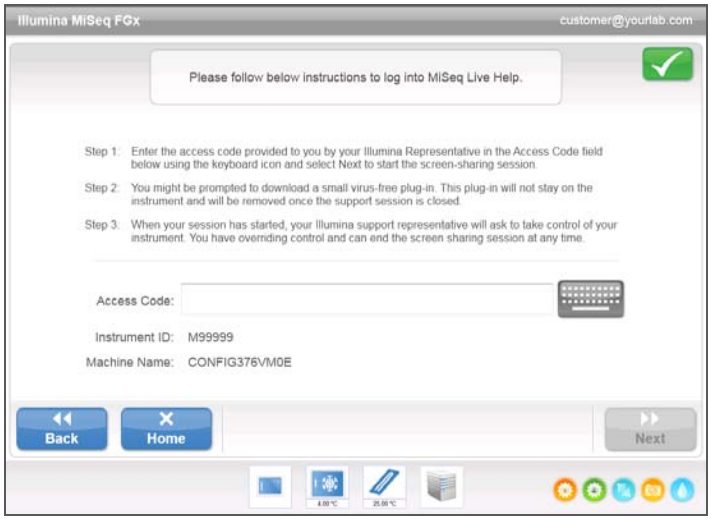
MiSeq FGx debe estar conectado a una red con acceso a Internet para que se active la opción Live Help. La función Live Help es una herramienta de asistencia en línea que permite a un representante del servicio de asistencia técnica de Illumina visualizar su pantalla de MiSeq FGx con su permiso y compartir el control del instrumento. Usted tendrá el control principal y podrá cerrar la sesión de uso compartido de la pantalla en cualquier momento.

Puede acceder a Live Help desde el icono de ayuda de la pantalla Welcome (Bienvenida).

Figura 28 Menú Help (Ayuda)

Para activar una conexión, solicite un código único de acceso al servicio de asistencia técnica de Illumina, introduzca dicho código en la pantalla de Live Help y, a continuación, seleccione **Next** (Siguiente).

Figura 29 Pantalla de Live Help


Illumina MiSeq FGx
customer@yourlab.com
Please follow below instructions to log into MiSeq Live Help.
Step 1: Enter the access code provided to you by your Illumina Representative in the Access Code field below using the keyboard icon and select Next to start the screen-sharing session.
Step 2: You might be prompted to download a small virus-free plug-in. This plug-in will not stay on the instrument and will be removed once the support session is closed.
Step 3: When your session has started, your Illumina support representative will ask to take control of your instrument. You have overriding control and can end the screen sharing session at any time.
Access Code:
Instrument ID: M99999
Machine Name: CONFIG376VM0E
Back
Home
Next

Opciones del software de análisis para experimentos de uso exclusivo en investigación

Una vez finalizado el análisis de RTA, los datos de secuenciación de MiSeq FGx para los experimentos de ForenSeq requieren un análisis en ForenSeq Universal Analysis Software. Al realizar un experimento de uso exclusivo en investigación en MiSeq FGx, los datos de secuenciación se pueden analizar en la nube con BaseSpace o en el ordenador del instrumento con MiSeq Reporter. BaseSpace y MiSeq Reporter suministran información sobre la alineación, las variantes y los conjuntos de cóntigos para cada genoma solicitado y para cada muestra de un experimento de varias muestras.

Descripción general de BaseSpace

BaseSpace es el entorno informático basado en la nube de Illumina. Si utiliza BaseSpace para almacenar y analizar los datos de los experimentos, disfrutará de estas ventajas:

- Elimina la necesidad del almacenamiento y el cálculo in situ.
- Permite la gestión y el análisis de los datos basados en la Web.
- Permite iniciar un nuevo experimento de secuenciación mientras que los datos se están analizando.
- Proporciona herramientas para la colaboración y el uso compartido globales.

Cuando se inicia el experimento de secuenciación, los archivos de datos se cifran durante el tránsito, se descifran durante el análisis y se vuelven a cifrar cuando se almacenan.

Puede iniciar sesión en BaseSpace al configurar el experimento de secuenciación. Para obtener más información, consulte *Pantalla BaseSpace Option (Opción BaseSpace)* en la página 26.

BaseSpace se desconectará automáticamente de MiSeq FGx al final del experimento o en cuanto los archivos del análisis de RTA hayan terminado de cargarse. Si se interrumpe la conexión a Internet, cuando se restablezca la conexión, los archivos de análisis continuarán cargándose desde el punto en el que se produjo la interrupción.

En cuanto se cargue el último archivo de llamadas de bases en BaseSpace, se iniciará el análisis adicional de los datos. En BaseSpace se admiten los mismos flujos de trabajo de análisis que en los análisis integrados en el instrumento con MiSeq Reporter. BaseSpace solo admite los mismos genomas que se suministran con MiSeq Reporter.

Puede conectarse a BaseSpace en basespace.com. Inicie sesión con sus credenciales de MyIllumina. Para obtener más información sobre el uso de BaseSpace, consulte la ayuda en línea de BaseSpace en el sitio web de Illumina: www.illumina.com/help/BaseSpaceHelp/BaseSpaceHelp.htm.

Descripción general de MiSeq Reporter

MiSeq Reporter es una aplicación de Windows Service que procesa llamadas de base generadas por análisis iniciales. MiSeq Reporter inicia los análisis adicionales inmediatamente después de finalizar los análisis de RTA del experimento de secuenciación.

MiSeq Reporter se ejecuta en el ordenador del instrumento MiSeq FGx. Sin embargo, la interfaz de software debe visualizarse utilizando un navegador web de otro ordenador conectado a la misma red que MiSeq Reporter.

Una vez finalizado el análisis secundario, se guardará un archivo llamado CompletedJobInfo.xml en la carpeta del experimento. Para obtener más información, consulte la *Guía del usuario de MiSeq Reporter (n.º de referencia 15042295)*.

Secuenciación durante el análisis

Si opta por utilizar MiSeq Reporter para un análisis adicional de un experimento de uso exclusivo en investigación, los recursos informáticos del instrumento MiSeq FGx se han concebido para secuenciar o analizar. Si se inicia un nuevo experimento de secuenciación en MiSeq FGx antes de que finalice el análisis secundario de un experimento anterior, aparece un cuadro de diálogo de confirmación. Tras confirmar el experimento de secuenciación, se detiene el análisis secundario.

Para reiniciar el análisis, utilice la función **Requeue** (Reposicionar en la cola) en la interfaz de MiSeq Reporter después de finalizar el nuevo experimento de secuenciación. En ese punto, el análisis comenzará desde el principio.

Realización de un experimento

Capítulo 3

Introducción 40
Flujo de trabajo de MiSeq FGx 41
Preparación del cartucho de reactivo 43
Inicio de sesión y selección de tipo de experimento 46
Limpieza de la celda de flujo 47
Carga de la celda de flujo 49
Carga de reactivos 51
Inicio del experimento 53
Supervisión del experimento 54

Introducción

Para realizar un experimento en MiSeq FGx, siga los pasos de configuración descritos en este capítulo. Una vez iniciado el experimento, el usuario no tendrá que intervenir más.

Cuando haya finalizado el experimento de secuenciación, no olvide realizar un lavado del instrumento.

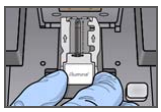
Flujo de trabajo de MiSeq FGx

Asegúrese de que las bibliotecas de muestras ya se encuentran cargadas en el cartucho de reactivos antes de configurar el experimento. Se deben seguir estos pasos con todos los protocolos de ensayos.

Prepare el cartucho de reactivos y, a continuación, cargue la biblioteca agrupada en el depósito designado.

En la interfaz de software, seleccione **Sequence** (Secuenciar) para iniciar los pasos de configuración del experimento.

[Opcional] Conéctese a BaseSpace si va a realizar un experimento de uso exclusivo en investigación.



Lave y seque bien la celda de flujo.

Siga las indicaciones del software para cargar la celda de flujo.

Siga las indicaciones del software para cargar la botella de Solución SBS (PR2). Asegúrese de que la botella de residuos esté vacía y cargue el cartucho de reactivo. En un experimento de uso exclusivo en investigación, seleccione una hoja de muestras.

Revise los parámetros del experimento y los resultados de comprobación anteriores al experimento.

Seleccione **Start Run** (Iniciar experimento).

Si lo desea, supervise el experimento desde la pantalla Sequencing (Secuenciación).

Realice un lavado posterior al experimento con agua sin nucleasas mezclada con hipoclorito de sodio.

Generación de grupos

Durante la generación de grupos, las moléculas individuales de ADN se unen a la superficie de la celda de flujo y, a continuación, se amplifican en puente para formar grupos.

Secuenciación

Después de la generación de grupos, se adquieren imágenes de ellos utilizando combinaciones de LED y filtros específicos de cada uno de los cuatro dideoxinucleótidos marcados con tinta fluorescente. Después de finalizar la adquisición de imágenes de una de las placas de la celda de flujo, la celda de flujo se mueve a su sitio para exponer la siguiente placa. El proceso se repite hasta que se digitalizan todas las placas. Después del análisis de imágenes, el software ejecuta las llamadas de bases, el filtrado y la puntuación de calidad.

Análisis

Cuando el experimento haya finalizado, ForenSeq Universal Analysis Software realizará automáticamente análisis adicionales. El análisis se puede supervisar con una conexión a Internet desde otro ordenador. Consulte la *Guía de ForenSeq Universal Analysis Software (n.º de referencia 15053876)*.

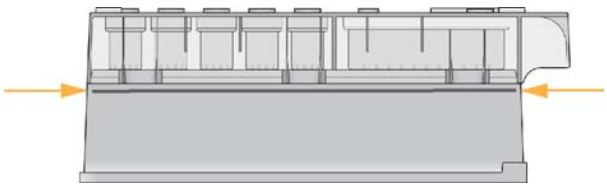
Preparación del cartucho de reactivo

Las instrucciones siguientes describen cómo descongelar el cartucho de reactivo con un baño de agua a temperatura ambiente. Este método conlleva aproximadamente una hora.

NOTA
Un Cartucho de reactivo MiSeq FGx sirve para los experimentos de secuenciación de ForenSeq, pero no para los experimentos de uso exclusivo en investigación. Cuando realice un experimento de secuenciación de uso exclusivo en investigación, utilice un cartucho de reactivo MiSeq estándar.

1. Extraiga el cartucho de reactivo almacenado a una temperatura de entre -25 °C y -15 °C.
2. Coloque el cartucho de reactivo en un baño de agua con suficiente agua desionizada a temperatura ambiente como para sumergir la base del cartucho reactivo hasta la línea de agua impresa en este. No permita que el agua supere la línea de agua máxima.

Figura 30 Línea de agua máxima



3. Descongele el cartucho de reactivo en el baño de agua a temperatura ambiente durante aproximadamente 60-90 minutos o hasta que esté completamente descongelado.
4. Saque el cartucho del baño de agua y dé unos suaves toques en el banco para sacar el agua de la base del cartucho. Seque la base del cartucho. Asegúrese de que no haya salpicaduras de agua en la parte superior del cartucho de reactivo.

Inspección del cartucho de reactivo

1. Invierta el cartucho de reactivo diez veces para mezclar los reactivos descongelados y para comprobar visualmente que todas las posiciones están descongeladas.

   NOTA
   Es esencial que los reactivos del cartucho estén completamente descongelados y mezclados para garantizar una correcta secuenciación.

2. Inspeccione visualmente los reactivos de las posiciones 1, 2 y 4 para asegurarse de que se han mezclado completamente y no presentan precipitados.
3. Golpee suavemente el cartucho en el banco para reducir las burbujas de aire en los reactivos.

   NOTA
   Los tubos del dispensador MiSeq FGx acceden al fondo de cada depósito para aspirar los reactivos, de modo que resulta importante que estos no presenten burbujas de aire.

4. Coloque el cartucho de reactivo en hielo o almacénelo a una temperatura de entre 2 °C y 8 °C (hasta seis horas) hasta que esté listo para configurar el experimento. Para obtener unos resultados óptimos, proceda directamente con la carga de la muestra y la configuración del experimento.

Carga de bibliotecas de muestras en cartuchos

NOTA
Si va a realizar un experimento de uso exclusivo en investigación, siga las instrucciones de carga de muestras de la sección *Carga de bibliotecas de muestras en cartuchos para uso exclusivo en investigación* en la página 45

Después de preparar el cartucho de reactivo de MiSeq FGx para su uso, estará listo para cargar las muestras.

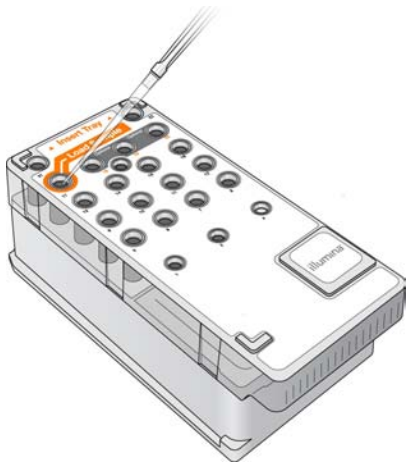
1 Utilice una toallita de laboratorio sin pelusa para limpiar el cierre metálico que cubre el depósito etiquetado como **Load Samples** (Carga de muestras).

2 Utilice una punta de pipeta limpia de 1 ml para perforar el sello metálico que cubre el depósito etiquetado como **Load Samples** (Carga de muestras).

NOTA
No perfore ninguna otra posición de reactivo. Las demás posiciones de reactivo se perforan automáticamente durante el experimento.

3 Pipetee 600 µl de las bibliotecas de muestras **DNL** en el depósito **Load Samples** (Carga de muestras). Evite tocar el sello metálico cuando dispense la muestra.
Compruebe la presencia de burbujas de aire en el depósito después de la carga de la muestra. Si hay burbujas de aire, golpee suavemente el cartucho contra el banco de trabajo para eliminar las burbujas.

Figura 31 Carga de bibliotecas



4 Continúe directamente con los pasos de configuración del experimento mediante el uso de la interfaz de MiSeq FGx Control Software.

Carga de bibliotecas de muestras en cartuchos para uso exclusivo en investigación

NOTA
Si el tipo de biblioteca lo requiere, desnaturalice y diluya las bibliotecas, y añada el control PhiX opcional. Consulte *Preparación de bibliotecas para la secuenciación en MiSeq (n.º de referencia 15039740)*.

Este paso no es aplicable a todos los tipos de biblioteca. Algunos métodos de preparación de muestras Illumina dan como resultado una concentración de bibliotecas agrupadas normalizada y lista para su uso. Consulte la guía de preparación de muestras del kit empleado para preparar bibliotecas de muestras.

NOTA
Si está usando cebadores personalizados, prepare estos y configure la hoja de muestras como se describe en *Uso de cebadores personalizados en MiSeq (n.º de referencia 15041638)*.

Después de preparar el cartucho de reactivo de MiSeq FGx para su uso, estará listo para cargar las muestras.

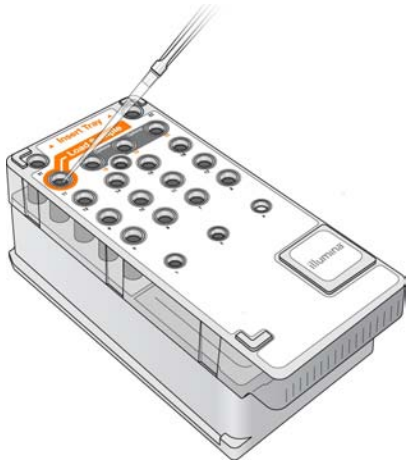
1 Utilice una toallita de laboratorio sin pelusa para limpiar el cierre metálico que cubre el depósito etiquetado como **Load Samples** (Carga de muestras).

2 Utilice una punta de pipeta limpia de 1 ml para perforar el sello metálico que cubre el depósito etiquetado como **Load Samples** (Carga de muestras).

NOTA
No perfore ninguna otra posición de reactivo. Las demás posiciones de reactivo se perforan automáticamente durante el experimento.

3 Pipetee 600 µl de sus bibliotecas preparadas en el depósito **Load Samples** (Carga de muestras). Evite tocar el sello metálico cuando dispense la muestra.
Compruebe la presencia de burbujas de aire en el depósito después de la carga de la muestra. Si hay burbujas de aire, golpee suavemente el cartucho contra el banco de trabajo para eliminar las burbujas.

Figura 32 Carga de bibliotecas



4 Continúe directamente con los pasos de configuración del experimento mediante el uso de la interfaz de MiSeq FGx Control Software.

Inicio de sesión y selección de tipo de experimento

1 En la pantalla de inicio de sesión, introduzca su nombre de usuario y contraseña de ForenSeq Universal Analysis Software y, a continuación, seleccione **Next** (Siguiente).

2 En la pantalla Welcome (Bienvenida), seleccione **Sequence** (Secuenciar).

3 Cuando aparezca la pantalla Select Run Type (Seleccionar tipo de experimento), seleccione **Forensic Genomics** (Genómica forense) o **Research Use Only Run** (Experimento de uso exclusivo en investigación).

Figura 33 Selección de tipo de experimento

4 Siga las indicaciones para cargar la celda de flujo y los reactivos y configurar el experimento (se describe en las siguientes secciones).

Limpieza de la celda de flujo

La celda de flujo está sumergida en tampón de almacenamiento, dentro de un contenedor de celdas de flujo.

1 Utilice un nuevo par de guantes sin polvo.

2 Utilice unas pinzas de plástico para agarrar la celda de flujo por la base del cartucho de plástico y sáquela del contenedor de celdas de flujo.

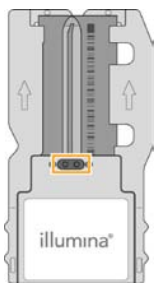
Figura 34 Retirada de la celda de flujo

3 Enjuague ligeramente la celda de flujo con agua sin nucleasas y asegúrese de que tanto el cartucho de plástico como el cristal se enjuagan bien para eliminar el exceso de sales. El exceso de sales puede afectar a la colocación de la celda de flujo en el instrumento. Si las sales se secan en el área de adquisición de imágenes, esta también se verá afectada.

Figura 35 Enjuague de la celda de flujo

4 Seque bien la celda de flujo y el cartucho con una toallita limpialentes sin pelusa, y tenga especial cuidado alrededor de la junta del puerto de la celda de flujo negra (marcada en naranja en la ilustración siguiente). Seque con suaves golpecitos la zona de las juntas y el cristal adyacente.

Figura 36 Puertos de celdas de flujo y juntas



5 Con un paño humedecido en alcohol, limpie el cristal de la celda de flujo. Asegúrese de que en el cristal no haya pelusas ni fibras de tejido, huellas u otras marcas. Evite usar el paño humedecido en alcohol en las juntas del puerto de la celda de flujo.

Figura 37 Secado de la celda de flujo

6 Seque el exceso de alcohol con una toallita limpialentes sin pelusa. Inspeccione visualmente la zona para asegurarse de que los puertos de las celdas de flujo no están obstruidos y de que las juntas están bien asentadas alrededor de los puertos de las celdas de flujo.

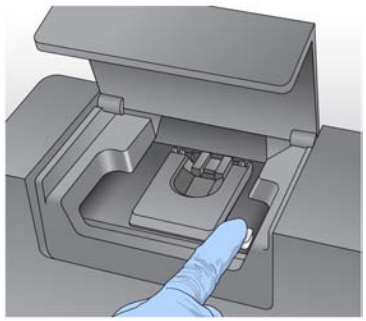
Si las juntas parecen estar desplazadas, vuelva a apretarlas en su sitio con cuidado hasta que queden perfectamente asentadas alrededor de los puertos de las celdas de flujo.

Carga de la celda de flujo

La pantalla Load Flow Cell (Cargar celda de flujo) le solicitará que cargue la celda de flujo.

1 Levante la puerta del compartimento de la celda de flujo y, a continuación, pulse el botón de apertura situado a la derecha del cierre de la celda de flujo. Se abrirá el cierre de la celda de flujo.

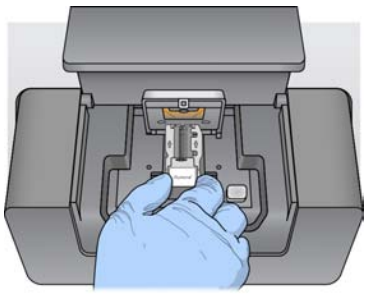
Figura 38 Apertura del cierre de la celda de flujo



2 Inspeccione visualmente la platina de la celda de flujo para asegurarse de que no presente pelusas. Si hubiera pelusa o cualquier otro desecho, limpie la platina de la celda de flujo con un paño humedecido en alcohol o una toallita sin pelusa humedecida en etanol o isopropanol. Limpie con cuidado la superficie de la platina de la celda de flujo hasta que esté totalmente limpia y seca.

3 Mientras sostiene la celda de flujo por los bordes del cartucho de la celda de flujo, colóquela en la platina.

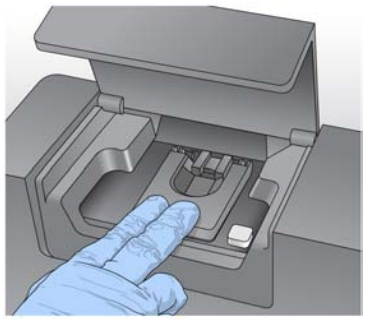
Figura 39 Colocación de la celda de flujo en la platina



4 Presione suavemente el cierre de la celda de flujo para cerrarlo sobre la celda de flujo.

NOTA
Al cerrarse la celda de flujo, dos pasadores de alineación situados cerca de la bisagra del cierre de la celda de flujo alinearán y posicionarán correctamente la celda de flujo. Sonará un clic que indica que el cierre de la celda de flujo está en posición segura.

Figura 40 Cierre de la celda de flujo



5 Compruebe la esquina inferior izquierda de la pantalla para confirmar que la RFID de la celda de flujo se ha leído correctamente.

NOTA
Si no se puede leer la RFID, se puede introducir manualmente la información de identificación. Sin embargo, el software solo permite el fallo de uno de los tres componentes con etiqueta de RFID (celda de flujo, cartucho de reactivo o Solución SBS (PR2)). Para obtener más información, consulte *Resolución del fallo de lectura de RFID* en la página 72.

6 Cierre la puerta del compartimento de la celda de flujo.

7 Seleccione **Next** (Siguiente) en la pantalla Load Flow Cell (Cargar celda de flujo). Se abrirá la pantalla Load Reagents (Cargar reactivos).

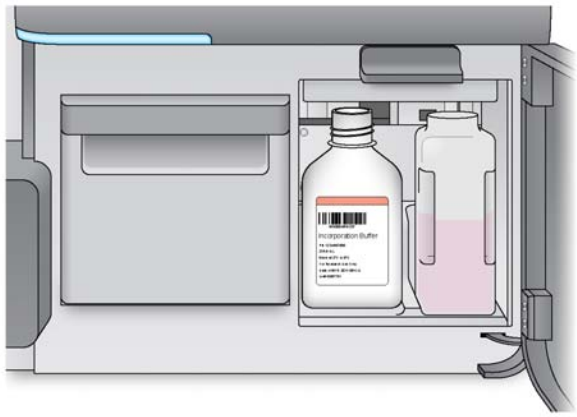
Carga de reactivos

La carga de reactivos consta de dos pasos. Primero, cargue la botella de Solución SBS (PR2) y asegúrese de que la botella de residuos esté vacía; a continuación, cargue el cartucho de reactivo.

Carga de Solución SBS (PR2) y comprobación de la botella de residuos

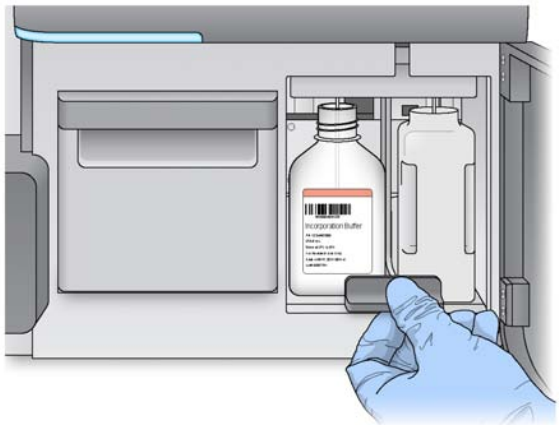
1. Retire la botella de Solución SBS (PR2) del almacenamiento a entre 2 y 8 °C. Invierta con cuidado la botella de Solución SBS (PR2) para mezclarla y, a continuación, retire la tapa.
2. Abra la puerta del compartimento de reactivos.
3. Levante el mango del dispensador hasta que quede bloqueado en su sitio.
4. Coloque la botella de Solución SBS (PR2) en la muesca a la derecha del refrigerador de reactivos.

Figura 41 Carga de la botella de Solución SBS (PR2)



5. Asegúrese de que la botella de residuos esté vacía. Si no lo está, vacíe el contenido en el contenedor de residuos adecuado.
6. Baje lentamente el mango del dispensador. Asegúrese de que los dispensadores se introducen en las botellas de Solución SBS (PR2) y de residuos.

Figura 42 Bajada del mango del dispensador



7 Compruebe en la esquina inferior izquierda de la pantalla que la RFID de la botella de Solución SBS (PR2) se haya leído correctamente.

NOTA
Si no es posible leer la RFID, se puede introducir manualmente la información de identificación. Sin embargo, el software solo permite el fallo de uno de los tres componentes con etiqueta de RFID (celda de flujo, cartucho de reactivo o Solución SBS (PR2)) por cada experimento de genómica forense. Para obtener más información, consulte *Resolución del fallo de lectura de RFID* en la página 72.

8 Seleccione **Next** (Siguiente) en la pantalla Load Reagents (Cargar reactivos).

Carga del cartucho de reactivo

NOTA
No deje la puerta del refrigerador de reactivos abierta durante largos períodos de tiempo.

1 Abra la puerta del refrigerador de reactivos.

2 Sujete el cartucho de reactivo por el extremo que tiene la etiqueta de Illumina e introdúzcalo en el refrigerador de reactivos hasta que el cartucho se detenga.

Figura 43 Carga del cartucho de reactivo

3 Cierre la puerta del refrigerador de reactivos.

4 Compruebe en la esquina inferior izquierda de la pantalla si la RFID del cartucho de reactivo se ha leído correctamente.

NOTA
Si no se puede leer la RFID, se puede introducir manualmente la información de identificación. Sin embargo, el software solo permite el fallo de uno de los tres componentes con etiqueta de RFID (celda de flujo, cartucho de reactivo o Solución SBS (PR2)). Para obtener más información, consulte *Resolución del fallo de lectura de RFID* en la página 72.

5 Cierre la puerta del compartimento de reactivos.

6 Seleccione **Next** (Siguiente) en la pantalla Load Reagents (Cargar reactivos). Se abrirá la pantalla Review (Revisar).

Inicio del experimento

Tras cargar la celda de flujo y los reactivos, revise los parámetros del experimento y realice una prueba previa al experimento, antes de iniciarlo.

Revisión de parámetros del experimento

1. Revise Worklist Name (Nombre de la lista de trabajo), Analysis Workflow (Flujo de trabajo de análisis) y Read Length (Longitud de la lectura). En el modo de uso exclusivo en investigación, estos parámetros se especifican en la hoja de muestras.
2. Cuando se encuentre en modo de uso exclusivo en investigación, revise las ubicaciones de las carpetas en la esquina inferior izquierda.
   Si es necesario realizar algún cambio, seleccione **Change Folders** (Cambiar carpetas). Una vez realizados los cambios, seleccione **Save** (Guardar) y, a continuación, **Next** (Siguiente).
3. Seleccione **Next** (Siguiente). Se abrirá la pantalla Pre-Run Check (Comprobación previa al experimento).

Revisión de la comprobación previa al experimento

El sistema lleva a cabo una comprobación de todos los componentes del experimento, del espacio en el disco y de las conexiones de red antes de iniciar el experimento.

Si algún elemento no supera la comprobación previa al experimento, aparecerá un mensaje en pantalla con instrucciones para corregir el error. Para obtener más información, consulte *Resolución de errores de configuración de experimentos* en la página 71.

Cuando todos los elementos hayan superado con éxito la comprobación previa al experimento, seleccione **Start Run** (Iniciar experimento).

Nota importante antes de empezar el experimento

ADVERTENCIA

El sistema MiSeq FGx es sensible a las vibraciones. Si toca el instrumento después de iniciar un experimento, el resultado de la secuenciación se puede ver perjudicado.

Después de seleccionar **Start Run** (Iniciar experimento), no abra las puertas del compartimento de reactivos ni el compartimento de la celda de flujo. Evite, asimismo, tocar el monitor del instrumento salvo si tiene que poner en pausa el experimento. Para obtener más información, consulte *Pausa de un experimento* en la página 33.

Supervisión del experimento

1 Durante el experimento, supervise el progreso, las intensidades y las puntuaciones de calidad en la pantalla Sequencing (Secuenciación). La pantalla Sequencing (Secuenciación) solo puede visualizarse. Para obtener más información, consulte *Pantalla Sequencing (Secuenciación)* en la página 24. Para un experimento de uso exclusivo en investigación, consulte *Pantalla Sequencing (Secuenciación) para uso exclusivo en investigación* en la página 29.

2 Cuando el experimento haya finalizado, aparecerá el botón Next (Siguiente). Revise los resultados en la pantalla Sequencing (Secuenciación) antes de continuar.

NOTA
La pantalla Sequencing (Secuenciación) permanecerá visible hasta que seleccione Next (Siguiente). Tras seleccionar Next (Siguiente), no es posible volver a la pantalla Sequencing (Secuenciación).

3 Seleccione **Next** (Siguiente) para salir de la pantalla Sequencing (Secuenciación) y proceda con un lavado posterior al experimento.

Métricas de experimento

Las métricas de experimento aparecen en la pantalla Sequencing (Secuenciación) en diferentes puntos de un experimento. Durante los pasos de generación de grupos, no se mostrarán las métricas. Cuando empiece la secuenciación, las métricas siguientes aparecerán en los ciclos indicados:

Criterio de medición	Kit	Ciclo
Intensidad	MiSeq FGx Reagent Kits	Ciclo 1-7
	MiSeq RUO Reagent Kits, v3	Ciclo 1-7
	MiSeq RUO Reagent Kits, v2	Ciclo 1-4
	MiSeq RUO Reagent Kits, v1	Ciclo 1-4
Intensidad y densidad de grupos	MiSeq FGx Reagent Kits	Ciclo 8-25
	MiSeq RUO Reagent Kits, v3	Ciclo 8-25
	MiSeq RUO Reagent Kits, v2	Ciclo 5-25
	MiSeq RUO Reagent Kits, v1	Ciclo 5-25
Intensidad, densidad de grupos, % PF, rendimiento y puntuaciones Q	MiSeq FGx Reagent Kits	Desde el ciclo 26 hasta que finalice el experimento
	MiSeq RUO Reagent Kits, v3	
	MiSeq RUO Reagent Kits, v2	
	MiSeq RUO Reagent Kits, v1	

Procedimientos de mantenimiento

Introducción 57
Realización de un lavado posterior al experimento 58
Realización de un lavado de mantenimiento 61
Realización de un lavado en modo en espera 64
Apagado del instrumento 67

Introducción

Realice siempre un lavado del instrumento cuando finalice el experimento de secuenciación.

El lavado regular del instrumento garantiza un rendimiento continuo de la siguiente manera:

- Limpia el reactivo restante de los dispensadores y los conductos de fluídica.
- Evita la acumulación de sal y su cristalización en los dispensadores y los conductos de fluídica.
- Evita la contaminación cruzada con el experimento anterior.

Frecuencia del mantenimiento

Lleve a cabo las actividades de mantenimiento descritas en este capítulo en los intervalos que figuran en las siguientes tablas.

Tabla 1 Mantenimiento durante el funcionamiento normal

Actividad	Diaria	Mensual	Según sea necesario
Lavado posterior al experimento	Después de cada experimento		
Lavado de mantenimiento		X	
Lavado en modo en espera			Para preparar para inactividad (≥7 días sin usar)
Apagado del instrumento			X

Tabla 2 Mantenimiento durante inactividad (≥7 días sin usar)

Actividad	Diaria	Mensual	Según sea necesario
Lavado en modo en espera		X	
Apagado del instrumento			X

Mantenimiento preventivo

Illumina recomienda llevar a cabo un mantenimiento preventivo por año natural. Si no dispone de contrato de servicios, póngase en contacto con el gestor de cuentas regional o con el servicio de asistencia técnica de Illumina para acordar un servicio de mantenimiento preventivo facturable.

Realización de un lavado posterior al experimento

Lleve a cabo siempre un lavado del instrumento después de terminar un experimento de secuenciación. Siga las indicaciones del software para cargar los componentes del lavado y realizar dicho lavado. El lavado posterior al experimento dura aproximadamente 30 minutos.

NOTA
El lavado posterior al experimento contiene hipoclorito de sodio. ***No*** utilice hipoclorito de sodio para un lavado de mantenimiento o lavado en modo en espera.

El software no continuará con los pasos de configuración para el siguiente experimento si no se ha realizado un lavado.

NOTA
Deje la celda de flujo usada en el instrumento. Debe haber una celda de flujo cargada en el instrumento para llevar a cabo un lavado del instrumento.

Consumibles proporcionados por el usuario

- Tween 20 (Sigma-Aldrich, n.º de catálogo P7949)
- Hipoclorito de sodio
- Agua sin nucleasas

Procedimiento

1. Prepare una solución de lavado nueva con Tween 20 y agua sin nucleasas, como se explica a continuación:
   a. Añada 5 ml de Tween 20 al 100 % a 45 ml de agua sin nucleasas. Estos volúmenes proporcionan el resultado de Tween 20 al 10 %.
   b. Añada 25 ml de Tween 20 al 10 % a 475 ml de agua sin nucleasas. Estos volúmenes proporcionan el resultado de una solución de lavado de Tween 20 al 0,5 %.
   c. Invierta varias veces para mezclar.
2. Prepare una solución de lavado nueva de hipoclorito de sodio con agua sin nucleasas, como se indica a continuación:
   a. Añada 30 µl de hipoclorito de sodio al 6 % a 870 µl de agua sin nucleasas. Estos volúmenes proporcionan el resultado de una dilución 1:30 de hipoclorito de sodio.
   b. Añada 50 µl de la dilución 1:30 de hipoclorito de sodio a 950 µl de agua sin nucleasas en un tubo MiSeq proporcionado por Illumina (n.º de referencia MS-102-9999).

      NOTA
      Asegúrese de que comprueba el porcentaje de hipoclorito de sodio de la etiqueta del producto. Es importante utilizar la concentración correcta de hipoclorito de sodio. Si la concentración es demasiado alta, puede provocar fallos en la generación de grupos de los experimentos siguientes. Si no dispone de hipoclorito de sodio al 6 %, prepare una solución de 1 ml de hipoclorito de sodio al 0,01 % en agua sin nucleasas.

   c. Mezcle bien la dilución de hipoclorito de sodio y agua pipeteando arriba y abajo con una micropipeta P1000.

3 Prepare los componentes de lavado con solución de lavado nueva de Tween 20 al 0,5 % de la siguiente forma:
   a Añada 6 ml de solución de lavado a cada depósito de la bandeja de lavado.
   b Añada 350 ml de solución de lavado a la botella de lavado de 500 ml.

4 Inserte el tubo MiSeq con la solución de lavado de hipoclorito de sodio al 0,01 % en la posición 17 de la bandeja de lavado hasta que el cuello del tubo esté alineado con la bandeja. El tubo desplaza la solución de lavado con Tween 20 y agua sin nucleasas de la posición 17.

Figura 44 Tubo MiSeq en la posición 17 de la bandeja de lavado

NOTA
Asegúrese de insertar el tubo MiSeq con hipoclorito de sodio solo en la posición 17 de la bandeja. Si inserta el tubo en otra posición, puede provocar fallos en la generación de grupos de los experimentos siguientes y puede dañar el sistema de fluídica del instrumento MiSeq FGx.

5 En la pantalla de lavado posterior al experimento, seleccione **Start Wash** (Iniciar lavado). El software eleva automáticamente los dispensadores del refrigerador de reactivos. Espere varios segundos para asegurarse de que los dispensadores estén completamente elevados antes de continuar.

6 Abra la puerta del refrigerador de reactivos y del compartimento de reactivos, y extraiga el cartucho de reactivo usado del refrigerador.

7 Deslice la bandeja de lavado para introducirla en el refrigerador de reactivos hasta que llegue al tope y seguidamente, cierre la puerta del refrigerador de reactivos.

8 Levante el mango del dispensador situado delante de la botella de Solución SBS (PR2) y de la botella de residuos hasta que quede bloqueado en su sitio.

9 Quite la botella de Solución SBS (PR2) y sustitúyala por la botella de lavado.

NOTA
Deseche la botella de Solución SBS (PR2) después de cada experimento. No reutilice la Solución SBS (PR2) restante.

10 Quite la botella de residuos y deseche el contenido de manera adecuada. Vuelva a colocar la botella de residuos en el compartimento de reactivos.

ADVERTENCIA

Este grupo de reactivos contiene formamida, una amida alifática que es una toxina que puede alterar la capacidad reproductora. Evite su inhalación o ingestión, o el contacto con la piel o los ojos, pues podrían producirse lesiones. Deseche los contenedores y los contenidos no utilizados de acuerdo con las normativas de seguridad oficiales de su zona. Para obtener más información, consulte la hoja de datos de seguridad (SDS) de este kit en support.illumina.com/sds.html.

11 Baje despacio el mango del dispensador, asegurándose de que los dispensadores se introducen en la botella de lavado y en la de residuos.

12 Cierre la puerta del compartimento de reactivos.

13 Seleccione **Next** (Siguiente). Comenzará el lavado posterior al experimento.

Cuando haya terminado el lavado, deje la celda de flujo utilizada, la bandeja de lavado y la botella de lavado que contiene la solución de lavado restante sobre el instrumento. Queda una pequeña cantidad de solución de lavado en el tubo MiSeq en la posición 17.

NOTA

Los dispensadores permanecen en la posición bajada, lo cual es normal. Deje la solución de lavado sin utilizar en la bandeja de lavado y la botella de lavado para evitar que los dispensadores se sequen y que entre aire en el sistema.

Realización de un lavado de mantenimiento

Realice un lavado de mantenimiento cada 7 días para garantizar un rendimiento óptimo. El lavado de mantenimiento incluye una serie de tres pasos de lavado con una solución de lavado de agua sin nucleasas mezclada con Tween 20. Espere unos 90 minutos a que finalice el lavado.

Consumibles proporcionados por el usuario

- Tween 20 (Sigma-Aldrich, n.º de catálogo P7949)
- Agua sin nucleasas

Procedimiento

1. Asegúrese de cargar una celda de flujo usada en el instrumento.
2. En la pantalla Welcome (Bienvenida), seleccione **Perform Wash** (Realizar lavado).
3. En la pantalla Perform Wash (Realizar lavado), seleccione **Maintenance Wash** (Lavado de mantenimiento). El software eleva automáticamente los dispensadores del refrigerador de reactivos.

Realización del primer lavado

1. Prepare una solución de lavado nueva con Tween 20 y agua sin nucleasas, como se explica a continuación:
   a. Añada 5 ml de Tween 20 al 100 % a 45 ml de agua sin nucleasas. Estos volúmenes proporcionan el resultado de Tween 20 al 10 %.
   b. Añada 25 ml de Tween 20 al 10 % a 475 ml de agua sin nucleasas. Estos volúmenes proporcionan el resultado de una solución de lavado de Tween 20 al 0,5 %.
   c. Invierta varias veces para mezclar.
2. Prepare los componentes de lavado con solución de lavado nueva de Tween 20 al 0,5 % de la siguiente forma:
   a. Añada 6 ml de solución de lavado a cada depósito de la bandeja de lavado.
   b. Añada 350 ml de solución de lavado a la botella de lavado de 500 ml.
3. Cargue la bandeja de lavado y la botella de lavado en el instrumento:
   a. Abra la puerta del compartimento de reactivos y la puerta del refrigerador de reactivos, y extraiga la bandeja de lavado o el cartucho de reactivo utilizados del refrigerador.
   b. Introduzca la bandeja de lavado en el refrigerador de reactivos hasta que llegue al tope. Cierre la puerta del refrigerador de reactivos.
   c. Levante el mango del dispensador situado frente a la botella de Solución SBS (PR2) y la botella de residuos hasta que quede en su sitio, y sustituya la botella de Solución SBS (PR2) por la botella de lavado.

      NOTA
      Deseche la botella de Solución SBS (PR2) después de cada experimento. No reutilice la Solución SBS (PR2) restante.

   d. Quite la botella de residuos y deseche el contenido de manera adecuada. Vuelva a colocar la botella de residuos en el compartimento de reactivos.

e Baje despacio el mango del dispensador, asegurándose de que los dispensadores se introducen en la botella de lavado y en la de residuos.
f Cierre la puerta del compartimento de reactivos.

4 Seleccione **Next** (Siguiente). Comenzará el primer lavado.

Realización del segundo lavado

NOTA
Utilice siempre solución de lavado nueva para cada paso de lavado. La reutilización de la solución de lavado del lavado anterior puede devolver residuos a los conductos de fluídica.

1 Prepare una solución de lavado nueva con Tween 20 y agua sin nucleasas, como se explica a continuación:
   a Añada 5 ml de Tween 20 al 100 % a 45 ml de agua sin nucleasas. Estos volúmenes proporcionan el resultado de Tween 20 al 10 %.
   b Añada 25 ml de Tween 20 al 10 % a 475 ml de agua sin nucleasas. Estos volúmenes proporcionan el resultado de una solución de lavado de Tween 20 al 0,5 %.
   c Invierta varias veces para mezclar.
2 Cuando haya finalizado el primer lavado, retire la bandeja de lavado y la botella de lavado y deseche la solución de lavado restante.
3 Rellene los componentes de lavado con solución de lavado nueva de Tween 20 al 0,5 % de la siguiente forma:
   a Añada 6 ml de solución de lavado a cada depósito de la bandeja de lavado.
   b Añada 350 ml de solución de lavado a la botella de lavado de 500 ml.
4 Cargue la bandeja de lavado y la botella de lavado, como se explica a continuación:
   a Introduzca la bandeja de lavado en el refrigerador de reactivos hasta que llegue al tope. Cierre la puerta del refrigerador de reactivos.
   b Cargue la botella de lavado y baje despacio el mango del dispensador, asegurándose de que los dispensadores se introducen en la botella de lavado y en la de residuos.
   c Cierre la puerta del compartimento de reactivos.
5 Seleccione **Next** (Siguiente). Comenzará el segundo lavado.

Realización del lavado final

1 Prepare una solución de lavado nueva con Tween 20 y agua sin nucleasas, como se explica a continuación:
   a Añada 5 ml de Tween 20 al 100 % a 45 ml de agua sin nucleasas. Estos volúmenes proporcionan el resultado de Tween 20 al 10 %.
   b Añada 25 ml de Tween 20 al 10 % a 475 ml de agua sin nucleasas. Estos volúmenes proporcionan el resultado de una solución de lavado de Tween 20 al 0,5 %.
   c Invierta varias veces para mezclar.
2 Cuando haya finalizado el segundo lavado, retire la bandeja de lavado y la botella de lavado y deseche la solución de lavado restante.

3 Rellene los componentes de lavado con solución de lavado nueva de Tween 20 al 0,5 % de la siguiente forma:
   a Añada 6 ml de solución de lavado a cada depósito de la bandeja de lavado.
   b Añada 350 ml de solución de lavado a la botella de lavado de 500 ml.

4 Cargue la bandeja de lavado y la botella de lavado, como se explica a continuación:
   a Introduzca la bandeja de lavado en el refrigerador de reactivos hasta que llegue al tope. Cierre la puerta del refrigerador de reactivos.
   b Cargue la botella de lavado y baje despacio el mango del dispensador, asegurándose de que los dispensadores se introducen en la botella de lavado y en la de residuos.
   c Cierre la puerta del compartimento de reactivos.

5 Seleccione **Next** (Siguiente). Comenzará el lavado final.

Después del lavado

Cuando haya terminado el lavado, deje la celda de flujo utilizada, la bandeja de lavado y la botella de lavado que contiene la solución de lavado restante sobre el instrumento.

NOTA
Los dispensadores permanecen en la posición bajada, lo cual es normal. Deje la solución de lavado sin utilizar en la bandeja de lavado y la botella de lavado para evitar que los dispensadores se sequen y que entre aire en el sistema.

Realización de un lavado en modo en espera

Si no tiene planeado utilizar el instrumento en los próximos siete días, prepárelo para que permanezca inactivo realizando un lavado en modo en espera. Un lavado en modo en espera realiza dos lavados consecutivos que irrigan cada posición para limpiar cualquier residuo de reactivos o acumulación de sal. Cada lavado dura unos 60 minutos. Espere unas 2 horas para que el lavado en modo en espera finalice.

Cuando el lavado en modo en espera haya finalizado, el instrumento estará en modo en espera y aparecerá un mensaje en la pantalla Welcome (Bienvenida) indicando el estado del instrumento. Cuando el instrumento está en el modo en espera, es preciso realizar un lavado de mantenimiento antes de iniciar un experimento de secuenciación. Consulte *Frecuencia del mantenimiento* en la página 57 para obtener más información sobre cuándo realizar los lavados.

NOTA
Illumina recomienda repetir el lavado en modo en espera ***cada 30 días*** de inactividad del instrumento.

Consumibles proporcionados por el usuario

- Tween 20 (Sigma-Aldrich, n.º de catálogo P7949)
- Agua sin nucleasas

Procedimiento

1. Asegúrese de que haya una celda de flujo usada cargada en el instrumento.
2. En la pantalla Welcome (Bienvenida), seleccione **Perform Wash** (Realizar lavado).
3. En la pantalla Wash Options (Opciones de lavado), seleccione **Standby Wash** (Lavado en modo en espera). El software eleva automáticamente los dispensadores del refrigerador de reactivos.

Realización del primer lavado

1. Prepare una solución de lavado nueva con Tween 20 y agua sin nucleasas, como se explica a continuación:
   a. Añada 5 ml de Tween 20 al 100 % a 45 ml de agua sin nucleasas. Estos volúmenes proporcionan el resultado de Tween 20 al 10 %.
   b. Añada 25 ml de Tween 20 al 10 % a 475 ml de agua sin nucleasas. Estos volúmenes proporcionan el resultado de una solución de lavado de Tween 20 al 0,5 %.
   c. Invierta varias veces para mezclar.
2. Prepare los componentes de lavado con solución de lavado nueva de Tween 20 al 0,5 % de la siguiente forma:
   a. Añada 6 ml de solución de lavado a cada depósito de la bandeja de lavado.
   b. Añada 350 ml de solución de lavado a la botella de lavado de 500 ml.
3. Cargue la bandeja de lavado y la botella de lavado en el instrumento:

a Abra la puerta del compartimento de reactivos y la puerta del refrigerador de reactivos, y extraiga la bandeja de lavado o el cartucho de reactivo utilizados del refrigerador.
b Introduzca la bandeja de lavado en el refrigerador de reactivos hasta que llegue al tope. Cierre la puerta del refrigerador de reactivos.
c Levante el mango del dispensador situado frente a la botella de Solución SBS (PR2) y la botella de residuos hasta que quede en su sitio, y sustituya la botella de Solución SBS (PR2) por la botella de lavado.

NOTA
Deseche la botella de Solución SBS (PR2) después de cada experimento. No reutilice la Solución SBS (PR2) restante.

d Quite la botella de residuos y deseche el contenido de manera adecuada. Vuelva a colocar la botella de residuos en el compartimento de reactivos.
e Baje despacio el mango del dispensador, asegurándose de que los dispensadores se introducen en la botella de lavado y en la de residuos.
f Cierre la puerta del compartimento de reactivos.

4 Seleccione **Next** (Siguiente). Comenzará el primer lavado.

Realización del segundo lavado

NOTA
Utilice siempre solución de lavado nueva para cada paso de lavado. La reutilización de la solución de lavado del lavado anterior puede devolver residuos a los conductos de fluídica.

1 Prepare una solución de lavado nueva con Tween 20 y agua sin nucleasas, como se explica a continuación:
a Añada 5 ml de Tween 20 al 100 % a 45 ml de agua sin nucleasas. Estos volúmenes proporcionan el resultado de Tween 20 al 10 %.
b Añada 25 ml de Tween 20 al 10 % a 475 ml de agua sin nucleasas. Estos volúmenes proporcionan el resultado de una solución de lavado de Tween 20 al 0,5 %.
c Invierta varias veces para mezclar.

2 Cuando haya finalizado el primer lavado, retire la bandeja de lavado y la botella de lavado y deseche la solución de lavado restante.

3 Rellene los componentes de lavado con solución de lavado nueva de Tween 20 al 0,5 % de la siguiente forma:
a Añada 6 ml de solución de lavado a cada depósito de la bandeja de lavado.
b Añada 350 ml de solución de lavado a la botella de lavado de 500 ml.

4 Cargue la bandeja de lavado y la botella de lavado, como se explica a continuación:
a Introduzca la bandeja de lavado en el refrigerador de reactivos hasta que llegue al tope. Cierre la puerta del refrigerador de reactivos.
b Cargue la botella de lavado y baje despacio el mango del dispensador, asegurándose de que los dispensadores se introducen en la botella de lavado y en la de residuos.
c Cierre la puerta del compartimento de reactivos.

5 Seleccione **Next** (Siguiente). Comenzará el segundo lavado.

Después del lavado

Cuando haya terminado el lavado, deje la celda de flujo utilizada, la bandeja de lavado y la botella de lavado que contiene la solución de lavado restante sobre el instrumento.

NOTA

Los dispensadores permanecen en la posición bajada, lo cual es normal. Deje la solución de lavado sin utilizar en la bandeja de lavado y la botella de lavado para evitar que los dispensadores se sequen y que entre aire en el sistema.

Apagado del instrumento

Se recomienda dejar siempre encendido el instrumento. Sin embargo, si es preciso apagar el instrumento, utilice el procedimiento siguiente para apagar Windows y preparar los conductos de fluídica.

1 Realice un lavado de mantenimiento. Para obtener más información, consulte *Procedimiento* en la página 61.

2 Quite la botella de residuos y deseche el contenido de manera adecuada. Vuelva a colocar la botella de residuos en el compartimento de reactivos.

3 Cierre la puerta del compartimento de reactivos.

4 En la pantalla Manage Instrument (Administrar instrumento), seleccione **Shut Down** (Apagar). Este comando apaga el software.

Figura 45 Pantalla Manage Instrument (Administrar instrumento)

5 Mueva el interruptor de alimentación a la posición OFF (Apagado).

NOTA
Cada vez que se apague el instrumento, espere como ***mínimo*** 60 segundos antes de volver a poner el interruptor de alimentación en la posición ON (Encendido).

Solución de problemas

Capítulo 5

Introducción 70
Resolución de errores de configuración de experimentos 71
Resolución del fallo de lectura de RFID 72
Prevención de reinicios durante un experimento 74
Solución de problemas de errores de velocidad de flujo 75
Realización de una prueba de volumen 76
Medición de los volúmenes de lavado esperados 78

Introducción

Esta sección describe los pasos de solución de problemas habituales que puede tomar antes de ponerse en contacto con el servicio de asistencia técnica de Illumina. Para la mayoría de los errores, aparecerá un mensaje en pantalla con las instrucciones para corregir el error.

Para cuestiones técnicas, visite las páginas de asistencia de MiSeq FGx del sitio web de Illumina para acceder a las preguntas frecuentes o inicie sesión en su cuenta de MyIllumina con el fin de acceder a los boletines de asistencia.

Si tiene problemas con la calidad o el rendimiento de los experimentos, póngase en contacto con el servicio de asistencia técnica de Illumina. Para obtener más información, consulte *Asistencia técnica* en la página 81.

Es posible que el representante del servicio de asistencia técnica de Illumina le solicite que proporcione copias de archivos específicos del experimento para solucionar problemas. Los archivos siguientes se encuentran en la raíz de la carpeta de resultados del experimento:

- SampleSheet.csv si utiliza el instrumento en modo de uso exclusivo en investigación
- RunParameters.xml
- RunInfo.xml
- Carpeta Interop

Resolución de errores de configuración de experimentos

Si falla alguna de las comprobaciones previas al experimento, aparecerá un icono rojo ✗ junto al elemento. Aparecerá un mensaje en pantalla que describirá el error y la acción necesaria para corregirlo.

Error	Acción
✗ **Flow Rate Measured (Velocidad de flujo medida)**	Se abre la pantalla de comprobación de la velocidad de flujo. Utilice la lista desplegable o el teclado en pantalla para introducir lo siguiente: • Solution (Solución): **PR2** • Volume (Volumen): **250** • Aspiration Rate (Velocidad de aspiración): **2500** • Dispense Rate (Velocidad de dispensación): **2500** Seleccione **Pump** (Bombear). Si el error persiste, defina el volumen para que bombee 500 µl de Solución SBS (PR2) y repita el proceso. Una vez bombeados los fluidos, seleccione **Restart Check** (Reiniciar comprobación). Cuando la comprobación previa al experimento se realice correctamente, el botón **Start Run** (Iniciar experimento) se activará. Si la comprobación del flujo vuelve a fallar, recoloque la celda de flujo para asegurarse de que el flujo no se interrumpa debido a una alineación incorrecta. Compruebe que no haya pelusas ni irregularidades en las juntas de la celda de flujo.
✗ **Free Disk Space (Liberar espacio en disco)**	Si queda poco espacio en el disco, aparecerá un mensaje que indicará la cantidad de espacio en el disco necesaria. Utilice la función **Manage Files** (Administrar archivos) para obtener el espacio necesario en el ordenador del instrumento.
✗ **Network Connection Active (Conexión de red activa)**	Asegúrese de que el cable de red está conectado al instrumento. Si la conexión de red no se restablece, seleccione **Reboot** (Reiniciar) en la pantalla Manage Instrument (Administrar instrumento) para reiniciar el software. Si la conexión de red sigue sin restablecerse, seleccione **Shut Down** (Apagar) en la pantalla Manage Instrument (Administrar instrumento) y, a continuación, apague el instrumento con el interruptor de alimentación. Espere al menos 60 segundos y, a continuación, encienda el instrumento e inicie el software.
✗ **Primary Analysis Ready (Análisis principal preparado)**	El análisis de RTA del experimento anterior no ha finalizado. El tiempo predeterminado para la finalización del análisis de RTA es una hora y aparece una cuenta atrás en la pantalla. Las opciones son esperar una hora o seleccionar la opción **Terminate Analysis** (Finalizar análisis). Los ciclos incompletos conllevan la detención de los análisis de ForenSeq Universal Analysis Software.
✗ **Sample Sheet Present (Hoja de muestras presente)**	Si no se le asigna a la hoja de muestras el ID del cartucho de reactivo como nombre para el experimento, el instrumento no podrá localizar automáticamente la hoja de muestras correspondiente. Vaya hasta la hoja de muestras del experimento. Si se le asigna a la hoja de muestras como nombre el ID del cartucho de reactivo del experimento, asegúrese de que la hoja de muestras se encuentre en la carpeta predeterminada de la hoja de muestras. Compruebe la ubicación de la carpeta predeterminada en Run Options (Opciones de experimento) de la pantalla Welcome (Bienvenida). Asegúrese de que la extensión del archivo de la hoja de muestras sea *.csv. Si falta la hoja de muestras, cree una y cópiela en las ubicaciones de las hojas de muestras especificadas en Run Options (Opciones de experimento). Después de localizar la hoja de muestras, seleccione **Restart Check** (Reiniciar comprobación).

Resolución del fallo de lectura de RFID

En los siguientes casos se producen errores de RFID:

- El componente cargado no forma parte de un kit forense.
- En los experimentos de uso exclusivo en investigación, el componente cargado no forma parte del kit incluido en la hoja de muestras.
- Hay un fallo técnico con la etiqueta de la RFID del componente.

Los pasos indicados a continuación pueden servir para solucionar errores de la RFID que se deriven de un fallo técnico.

NOTA
En un experimento se permite un fallo de lectura de RFID. Si no es posible leer la RFID de dos consumibles, el software no puede continuar con el paso siguiente de la configuración del experimento. Si esto ocurre, póngase en contacto con el servicio de asistencia técnica de Illumina.

Celda de flujo

1. Siempre debe volver a intentar la lectura de RFID antes de continuar. Para ello, abra y cierre la puerta del compartimento de la celda de flujo.
2. Si la RFID falla una segunda vez, abra la puerta del compartimento de la celda de flujo y retire la celda de flujo con cuidado.
3. Compruebe si en la celda de flujo o la platina de la celda de flujo hay desechos o sales que puedan detener la lectura de RFID.
4. Vuelva a colocar la celda de flujo. Asegúrese de que el cierre coloca la celda de flujo con la alineación correcta.
5. Cierre la puerta del compartimento de la celda de flujo.
6. Si la RFID continúa fallando, seleccione el icono del teclado para abrir el teclado en pantalla.
7. Introduzca el número del código de barras de la celda de flujo, que se encuentra en la etiqueta del contenedor de celdas de flujo justo debajo del código de barras. Seleccione **Done** (Hecho).
8. Seleccione **Next** (Siguiente) para continuar con el paso siguiente de la configuración del experimento.

Botella de Solución SBS (PR2)

1. Siempre debe volver a intentar la lectura de RFID antes de continuar. Para ello, suba y baje el mango del dispensador de reactivo.
2. Si la RFID falla una segunda vez, abra la puerta del compartimento de reactivos. Levante el mango del dispensador y retire la botella de Solución SBS (PR2).
3. Compruebe si en la botella de Solución SBS (PR2) o en el compartimento de reactivos hay desechos o sales que puedan detener la lectura de RFID.
4. Sustituya la botella de Solución SBS (PR2) y baje despacio el mango del dispensador hasta que quede fijado en su sitio. Asegúrese de que los dispensadores se introducen en las botellas de Solución SBS (PR2) y de residuos.
5. Si la RFID continúa fallando, seleccione el icono del teclado para abrir el teclado en pantalla.

6 Introduzca el número del código de barras de la botella de Solución SBS (PR2), que se encuentra en la etiqueta de la botella de Solución SBS (PR2) justo debajo del código de barras. Seleccione **Done** (Hecho).

7 Seleccione **Next** (Siguiente) para continuar con el paso siguiente de la configuración del experimento.

Cartucho de reactivo

1 Siempre debe volver a intentar la lectura de RFID antes de continuar. Para ello, abra y cierre la puerta del refrigerador de reactivos.

2 Si la RFID falla una segunda vez, abra la puerta del refrigerador de reactivos y extraiga el cartucho.

3 Compruebe si en el cartucho de reactivo o el refrigerador de reactivos hay desechos o sales que puedan detener la lectura de RFID.

4 Sustituya el cartucho de reactivo y cierre la puerta del refrigerador de reactivos.

5 Si la RFID sigue fallando, seleccione **Enter Reagent Kit Barcode** (Introducir el código de barras del kit de reactivos).

6 Introduzca el código de barras del kit de reactivos, que se encuentra en la etiqueta del kit justo debajo del código de barras.

7 Introduzca el número de pieza del cartucho de reactivo, que se encuentra a la derecha de **REF** en la etiqueta del kit de reactivos.

Figura 46 Introducción de la información sobre reactivos

8 Seleccione **Next** (Siguiente) para volver a la pantalla Load Reagents (Cargar reactivos).

9 Seleccione **Next** (Siguiente) para continuar con el paso siguiente de la configuración del experimento.

Prevención de reinicios durante un experimento

Si MiSeq FGx se reinicia en mitad de un experimento, puede ser porque el software Windows Update en la red se haya configurado para instalar automáticamente actualizaciones de software. (Este ajuste debe haberse desactivado durante la instalación.) Póngase en contacto con el departamento de TI local si desea obtener ayuda para inhabilitar las actualizaciones automáticas del sistema operativo Windows que se ejecuta en segundo plano en MiSeq FGx.

NOTA

Un reinicio finaliza el experimento y no se puede recuperar. El experimento debe volver a empezar desde el principio.

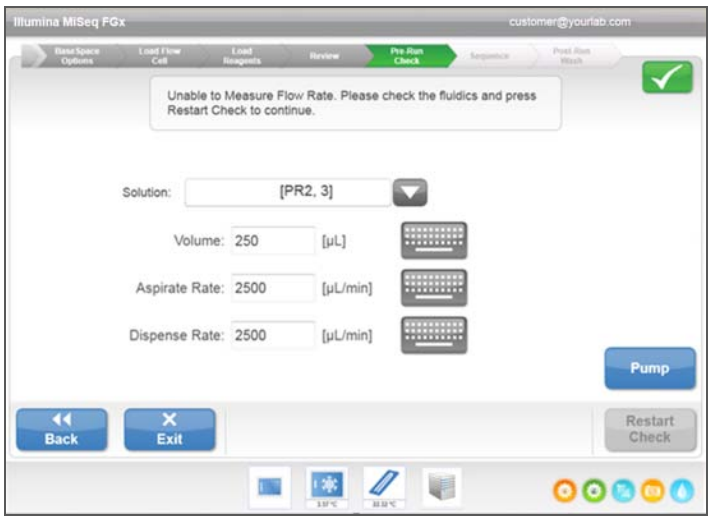
Solución de problemas de errores de velocidad de flujo

La velocidad de flujo es la velocidad a la que los fluidos pasan por el sistema de fluídica (µl/min). Se mide antes de cada experimento durante la comprobación previa. Si el sistema no puede medir la velocidad de flujo, tendrá que bombear un volumen determinado de reactivo (Solución SBS (PR2)) por el sistema antes de volver a comprobar la velocidad de flujo.

1 Utilice la lista desplegable o el teclado en pantalla para introducir la información siguiente:
- Solution (Solución): **PR2**
- Volume (Volumen): **250 µl**
- Aspiration Rate (Velocidad de aspiración): **2500 µl/min**
- Dispense Rate (Velocidad de dispensación): **2500 µl/min**

2 Seleccione **Pump** (Bombear).

Figura 47 Medición de la velocidad de flujo



3 Cuando haya finalizado el paso de bombeo, seleccione **Restart Check** (Reiniciar comprobación).

4 Si el error persiste, defina el volumen para que bombee 500 µl de Solución SBS (PR2) y repita el proceso una vez más. Si el segundo intento no resuelve el error, póngase en contacto con la asistencia técnica de Illumina.

Realización de una prueba de volumen

Una obstrucción de los conductos de fluídica podría ser la causa de una administración de reactivos incorrecta y afectar a los resultados de secuenciación. Si sospecha que existe una obstrucción en los conductos de fluídica, realice una prueba de volumen.

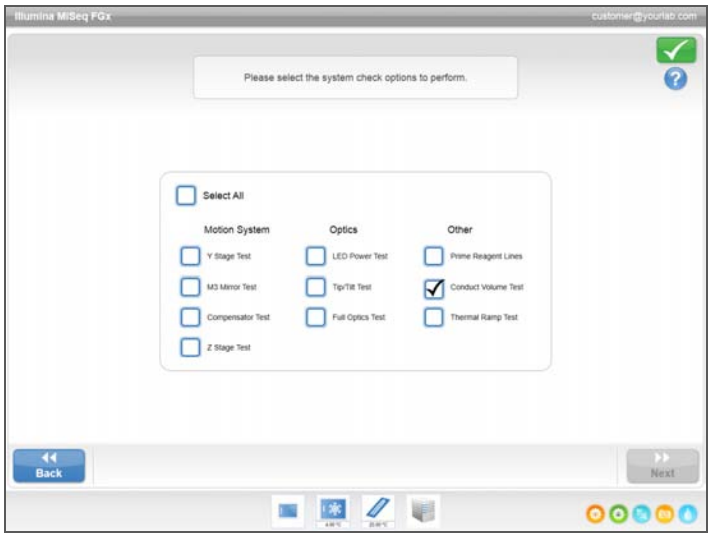
Una prueba de volumen comprueba el estado del sistema de fluídica calculando el volumen entre dos burbujas a medida que pasan por los sensores. Para realizar una prueba de volumen, debe cargar la bandeja de lavado y la botella de lavado con agua sin nucleasas y debe disponer de una celda de flujo usada, colocada en su sitio. Siga las indicaciones que aparezcan en pantalla para realizar la prueba.

1 Asegúrese de cargar una celda de flujo usada en el instrumento.

2 En la pantalla Manage Instrument (Administrar instrumento), seleccione **System Check** (Comprobación del sistema).

3 Seleccione **Conduct Volume Test** (Realizar prueba de volumen) y, a continuación, seleccione **Next** (Siguiente).

Figura 48 Pantalla System Check (Comprobación del sistema)



4 Llene cada depósito de la bandeja de lavado con 6 ml de agua sin nucleasas.

5 Llene la botella de lavado de 500 ml con 350 ml de agua sin nucleasas.

6 Cargue la bandeja de lavado y la botella de lavado en el instrumento.

a Abra la puerta del compartimento de reactivos y la puerta del refrigerador de reactivos, y deslice la bandeja de lavado en el refrigerador de reactivos hasta que se detenga. Cierre la puerta del refrigerador de reactivos.

b Levante el mango del dispensador hasta que quede bloqueado en su sitio y cargue la botella de lavado.

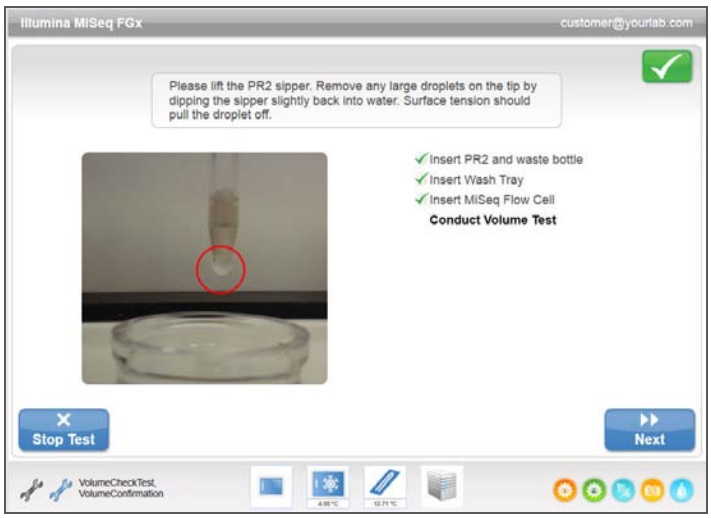
c Quite la botella de residuos y deseche el contenido de manera adecuada. Vuelva a colocar la botella de residuos en el compartimento de reactivos.

d Baje despacio el mango del dispensador, asegurándose de que los dispensadores se introducen en la botella de lavado y en la de residuos.

7 De acuerdo con las indicaciones en pantalla, elimine las gotas del dispensador de la botella de lavado, como se explica a continuación:

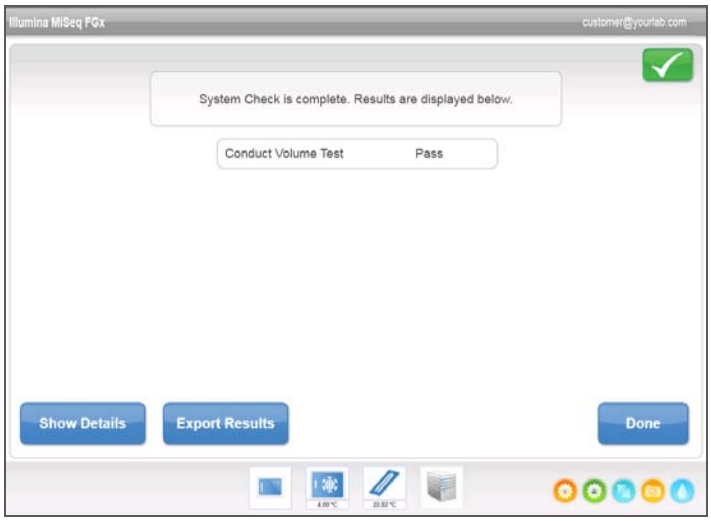
a Cuando se le indique, levante lentamente el mango del dispensador y compruebe que no haya una gota grande de agua en el dispensador de la botella de lavado.
b Cuando se le indique, baje lentamente el mango del dispensador hacia el agua lo suficiente como para permitir que la tensión superficial elimine la gota.
c Cuando se le indique, levante lentamente el mango del dispensador y compruebe que no haya una gota grande de agua en el dispensador de la botella de lavado.
d Cuando se le indique, baje lentamente el mango del dispensador hasta el punto máximo, asegurándose de que los dispensadores se introducen en la botella de lavado y en la de residuos.

Figura 49 Eliminación de la gota del dispensador


Illumina MiSeq FGx
customer@yourlab.com
Please lift the PR2 sipper. Remove any large droplets on the tip by dipping the sipper slightly back into water. Surface tension should pull the droplet off.
Insert PR2 and waste bottle
Insert Wash Tray
Insert MiSeq Flow Cell
Conduct Volume Test
Stop Test
Next
VolumeCheckTest, VolumeConfirmation

8 Seleccione **Next** (Siguiente). Se iniciará la prueba de volumen.
Cuando la prueba de volumen haya finalizado, los resultados aparecerán en la pantalla.

Figura 50 Resultados de la prueba de volumen



Si no se supera la prueba, realice un lavado de mantenimiento. Consulte *Procedimiento* en la página 61.

9 Cuando haya finalizado el lavado de mantenimiento, repita la prueba de volumen.

Medición de los volúmenes de lavado esperados

La medición de los volúmenes de lavado esperados confirma que la fluídica de lavado funciona correctamente.

1 Antes de empezar el lavado, vacíe la botella de residuos.

2 Cuando haya terminado el lavado, mida el volumen de lavado de la botella de residuos.

Tipo de lavado	Volumen de lavado esperado
Lavado posterior al experimento	25,5 ml
Lavado en modo en espera	46 ml
Lavado de mantenimiento	17,25 ml

Índice

A

abrazadera de la celda de flujo 4
alerta de estado, icono 13
alertas de correo electrónico 16
análisis
  durante la secuenciación 37
  opciones 36
análisis en tiempo real
  carpeta del experimento 32
  generación de plantillas 31
apagar el instrumento 19, 67
archivo de manifiesto
  copiar en instrumento 14
asistencia al cliente 81
asistencia técnica 81
ayuda Live Help 34

B

BaseSpace 26
  conexión 12
botella de residuos 5

C

cargar celda de flujo 22, 26
cargar reactivos 23, 27
  cartucho 52
  solución SBS 51
carpetas de experimento
  gestionar 14
carpetas del experimento
  asignación de nombres 32
  temporal, resultados, análisis 32
celda de flujo
  cargar 22, 26, 49
  descripción general 4
  limpiar 47
ciclos de una lectura 32
compartimento de la celda de flujo 3-4
compartimento de reactivos 3, 5
componentes
  celda de flujo 4
  compartimento de la celda de flujo 3-4
  compartimento de reactivos 3, 5
  módulo óptico 3
conexión de red 71
configuración de red 20
configuración del instrumento 19
configuración del sistema 20
consumibles
  proporcionados por el usuario 7
  proporcionados por Illumina 7
consumibles proporcionados por el usuario 7
contraseña 6
copiar archivos y carpetas 14

D

densidad de grupos 24
detención de un experimento 33
dirección IP 20
documentación 81
duración del experimento 32

E

eliminar archivos y carpetas 14
empaquetar registros 15
encender el instrumento 6
espacio en disco
  comprobación 33
  poco espacio en disco 71

F

filtro de castidad 24
fluídica
  lavar 61, 64
  solución de problemas 75
  solucionar problemas 76
flujo de trabajo
  duración del experimento 32

G

generación de plantillas 31
gestionar fórmulas 14

H

hoja de muestras
  copiar en instrumento 14
  no encontrada 71

I

iconos
  alerta de estado 13
  errores y advertencias 13
  indicadores de actividad 12
  sensores 12
inactivar el instrumento 64
indicadores de actividad 12
indicadores del sensor 12
inicialización 71
intensidades 24
interruptor de alimentación 6

L

lavado de mantenimiento 13
lavado en modo en espera 13, 64
lavados
  configuración de lavado posterior al experimento 16
  en modo en espera 64
  mantenimiento 13, 61

modo en espera 13
posterior al experimento 58
preparar para apagar 67
preparar para inactividad 64
ventajas 57
volúmenes esperados 78
Live Help 34
llamadas de bases 24
longitud de lectura 32

M

mango del dispensador 5
mantenimiento, lavado 61
Minimize to Windows 19
MiSeq Reporter
descripción general 37
módulo óptico 3
mover archivos y carpetas 14

N

nombre de dominio 20
nombre de usuario 6

O

opciones de experimento 16

P

pantalla de secuenciación 24, 29, 54
pantalla Welcome 11
pantallas de configuración del experimento 25
base de datos 22
investigación de antecedentes 22
pausa de un experimento 33
posterior al experimento, lavado 58
prueba de volumen 76
puntuaciones Q 24

R

reactivos
cargar 23, 27, 51
suministrados en un kit 7
referencias de genoma 14
refrigerador de reactivos, temperatura 12
reiniciar software 19
RFID
cartucho de reactivo 52
celda de flujo 49
solución de problemas 72
solución SBS 51

S

seleccionar un experimento 22
sensor de puerta de la celda de flujo 12
software
comprobación de espacio en disco 33
configuración del instrumento 19
duración del experimento 32
inicialización 6
solución de problemas
archivos específicos del experimento 70
empaquetar registros 15
RFID 72
velocidad de flujo 75
solución SBS, carga 51
solucionar problemas
errores de configuración de experimento 71
fluídica 76
supervisar el experimento 24, 29, 54

T

técnica, ayuda 81

U

ubicaciones de las carpetas
configuración predeterminada 16

V

velocidad de flujo, solución de problemas 75
visor del análisis de secuenciación 29, 54
volúmenes de lavado 78

Asistencia técnica

Si necesita asistencia técnica, póngase en contacto con el servicio de asistencia técnica de Illumina.

Tabla 3 Información de contacto general de Illumina

Sitio web	www.illumina.com
Correo electrónico	techsupport@illumina.com

Tabla 4 Números de teléfono del servicio de asistencia al cliente de Illumina

Zona	Número de contacto	Zona	Número de contacto
Norteamérica	1.800.809.4566	Irlanda	1.800.812949
Alemania	0800.180.8994	Italia	800.874909
Australia	1.800.775.688	Noruega	800.16836
Austria	0800.296575	Nueva Zelanda	0800.451.650
Bélgica	0800.81102	Países Bajos	0800.0223859
Dinamarca	80882346	Reino Unido	0800.917.0041
España	900.812168	Suecia	020790181
Finlandia	0800.918363	Suiza	0800.563118
Francia	0800.911850	Otros países	+44.1799.534000

Hojas de datos de seguridad

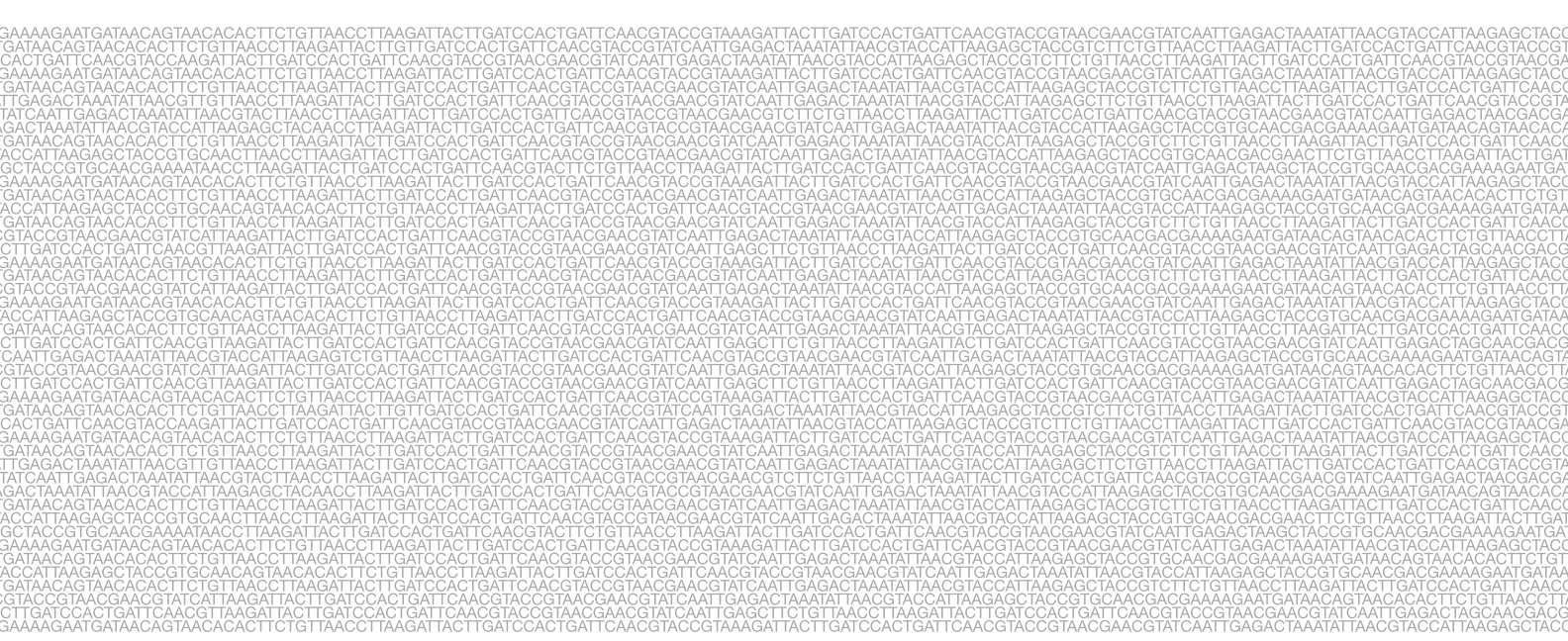
Las hojas de datos de seguridad (SDS) están disponibles en el sitio web de Illumina en support.illumina.com/sds.html.

Documentación del producto

La documentación del producto en PDF está disponible para su descarga en el sitio web de Illumina. Vaya a support.illumina.com, seleccione un producto y, a continuación, haga clic en **Documentation & Literature** (Documentación y bibliografía).

N.º de referencia 15050524 Rev. C ESP

Precio de venta: 50,00 $ (USD)



Illumina
5200 Illumina Way
San Diego, California 92122 U.S.A.
+1.800.809.ILMN (4566)
+1.858.202.4566 (fuera de Norteamérica)
techsupport@illumina.com
www.illumina.com